

**EDUARDO BEZERRA ESPÍNOLA**

**RESPOSTAS COMPORTAMENTAIS DE RATOS  
JOVENS E IDOSOS APÓS ADMINISTRAÇÃO DE  
OXOTREMORINA**

*Tese apresentada à Universidade Federal  
de São Paulo - Escola Paulista de  
Medicina, para obtenção do título de  
Mestre em Psicobiologia.*

SÃO PAULO

1997

**EDUARDO BEZERRA ESPÍNOLA**

**RESPOSTAS COMPORTAMENTAIS DE RATOS  
JOVENS E IDOSOS APÓS ADMINISTRAÇÃO DE  
OXOTREMORINA**

*Tese apresentada à Universidade Federal  
de São Paulo - Escola Paulista de  
Medicina, para obtenção do título de  
Mestre em Psicobiologia.*

Orientador: Prof. Dr. Elisaldo de Araújo Carlini

Co-orientadora: Prof<sup>a</sup>Dr<sup>a</sup> Maria Gabriela M. de Oliveira

SÃO PAULO

1997

Espínola, Eduardo Bezerra

**Respostas comportamentais de ratos jovens e idosos após administração de oxotremorina. São Paulo, 1997.**

79p.

Tese (Mestrado) - Universidade Federal de São Paulo - Escola Paulista de Medicina.

1. Envelhecimento. 2. Memória. 3. Cromodacriorréia  
3. Tremor. 4. Agonistas muscarínicos

Trabalho realizado no Departamento de Psicobiologia da Universidade Federal de São Paulo - Escola Paulista de Medicina, com bolsa concedida pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

À minha mãe, por ter desempenhado papel duplo, sendo pai e mãe ao mesmo tempo, dedicando deste modo, todo seu tempo e esforço para que eu tivesse a possibilidade de alcançar este objetivo.

À Silvinha, pelo amor, carinho, dedicação e pela compreensão do pouco tempo que dispunha para estarmos juntos.

"Há, aliás, uma anedota americana que diz bem da pequena credibilidade dos diagnósticos em geriatria: um senhor de 100 anos de idade procura um médico e se queixa de "dor no joelho esquerdo". O médico meneia a cabeça, após rápido exame, ele se dirige ao senhor, dizendo que nada poderia fazer, já que a dor em seu joelho era fruto da idade. O velho então retruca: "Mas Dr., meu joelho direito também tem cem anos e nada sinto nele"". (citado em Laks, J. - **J. Bras. Psiq.** 32(5):293-302, 1983).

## **AGRADECIMENTOS**

Ao Prof. Dr. Elisaldo Carlini, pela atividade estimulante, espírito científico, contagiante e pela oportunidade de cursar a pós-graduação sob a sua ilustre orientação. Um gigante, cujos ombros fazem o apoio necessário ao crescimento científico da pós-graduação e mais especificamente, de seus orientandos.

À Prof<sup>a</sup>. Dra. Maria Gabriela Oliveira, pelo auxílio essencial, paciente e dedicado na Co-Orientação do trabalho de tese.

À Prof<sup>a</sup>. Dra. Solange Nappo, pelo incentivo e consideração.

Ao Departamento de Psicobiologia, pela cessão da estrutura física que possibilitou a realização dos experimentos.

Ao Luís Mouro pelo profissionalismo e pela paciente execução dos trabalhos gráficos.

Ao grupo do CEBRID: Alessandra, Ana Regina, Elena, Jaison, J. C. Galduróz, João Villares, Luís Mouro, Marlene, Meire, Rita Mattei, Ritinha e Toninho pelo apoio nas horas mais necessárias.

Ao grupo do Laboratório de Tecnologia Farmacêutica, incluindo professores, funcionários e colegas; em especial, Dr. Reinaldo Nóbrega, Célia, Crispim e Gil.

À Prof<sup>a</sup>. Rinalda Araújo, pela confiança, estímulo constante e por ter proporcionado a descoberta do horizonte científico, permitindo assim, a jornada em direção à pós-graduação.

Aos colegas Rosângela F. Dias, Suzana Galvão e Luís Marques pelo companheirismo, amizade e respeito.

À Cristina Jorge (bibliotecária da Psicobiologia), pela paciência e auxílio amigo.

Aos funcionários do Departamento de Psicobiologia, em especial, Dorgival, Luís Goiano, Manoel, Nelson e Severino Lima (in memoriam) por estarem sempre dispostos ao auxílio.

À Nereide, por dirimir com carinho todas as nossas dúvidas referentes à pós-graduação, e ao Maurício, pelo auxílio junto aos computadores.

À Secretaria de Pós-graduação da Psicobiologia, pela disposição e auxílio nas horas mais difíceis.

Aos companheiros de sala, Armando e Laura, pela amizade e auxílio.

Aos companheiros de pós-graduação, pelo incentivo, amizade e união nos momentos árdusos.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), e à Associação Fundo de Incentivo à Psicofarmacologia (AFIP).

Aos docentes do Departamento pelos ensinamentos e críticas construtivas.

À Prof<sup>a</sup>. Dra. Maristela Monteiro

Enfim, agradeço a todos aqueles que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho, perdoando-me se, por acaso, houve omissão dos mesmos nos agradecimentos.



## SUMÁRIO

	Página
I - INTRODUÇÃO .....	1
I.1 - Considerações gerais .....	1
I.2 - Mudanças no SNC decorrentes do envelhecimento..	4
I.2.1 - Alterações morfo-funcionais.....	5
I.2.2 - Alterações neuroquímicas.....	6
I.2.3 - Alterações comportamentais.....	8
I.3 - Sistema Colinérgico.....	10
I.3.1 - Aspectos funcionais.....	10
I.3.2- Localização dos neurônios colinérgicos.....	11
I.3.3 - Sistema Colinérgico e Comportamento.....	12
I.4 - Sistema Colinérgico e Envelhecimento.....	14
I.4.1 - Alterações morfológicas.....	14
I.4.2 - Alterações neuroquímicas.....	15
I.5 - Hipótese Colinérgica de Prejuízo de Memória associado à Idade .....	17
I.6 Efeitos de drogas colinérgicas em ratos idosos .	19
II - OBJETIVO.....	21
III - MATERIAL E MÉTODOS.....	22
III.1 - Animais.....	22
III.2 - Drogas.....	22
III.3 - Metodologia.....	23
III.3.1 - Tremor.....	23
III.3.2 - Cromodacriorréia.....	24
III.3.3 - Labirinto em T.....	26

IV - ESTATÍSTICA.....	31
V - RESULTADOS.....	32
VI - DISCUSSÃO.....	40
VII - CONCLUSÕES .....	49
VIII - RESUMO .....	50
IX - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	51

# **I - INTRODUÇÃO**

## **I.1 - CONSIDERAÇÕES GERAIS**

Atingir idade avançada, em tempos passados, era experiência restrita a um pequeno número de pessoas e, portanto, o idoso não representava parte importante da população geral. Uma série de fenômenos conjugados, tais como controle de doenças transmissíveis, certas doenças crônicas, saneamento básico, enfim, melhoria da qualidade de vida, têm contribuído para um aumento significativo do número de pessoas idosas. Este aumento é característico tanto dos países desenvolvidos como também dos do Terceiro Mundo (KALACHE et al., 1987). No final do presente século estima-se que, no Ocidente, o número de pessoas acima de 65 anos será o dobro do total existente atualmente (PORSOLT, 1989).

No Brasil, o número de indivíduos acima de 60 anos deverá ir dos 7 milhões, estimativa de 1980, para 14 milhões no ano 2000, representando um aumento de 5,8 para 7,8 % da população total. A estimativa para o ano 2025 é de, aproximadamente 32 milhões de idosos (VERAS & MURPHY, 1991). De 1980 até o ano 2000 este grupo etário de 60 anos ou mais, crescerá 107%, enquanto o dos menores de 15 anos crescerá apenas 14% neste mesmo período (RAMOS et al., 1987).

Este aumento populacional de idosos vem causando um grande impacto sobre a vida social e econômica dos

países, principalmente no campo da saúde (BARTUS, 1990), em que os altos custos médicos com os idosos estão sendo cada vez mais sentidos pelas organizações de saúde governamentais e privadas (PORSOLT, 1989). Já há algum tempo que os países ricos tentam-se adaptar aos consideráveis problemas sócio-econômicos desencadeados pelo aumento da população idosa (KALACHE et al., 1987), enquanto que os países do Terceiro Mundo, inclusive o Brasil, ainda não encaram com seriedade tal problema, pois há carência de interesse pelo assunto e ainda são poucos os estudos que tratam desta problemática (RAMOS et al., 1987).

A velhice, por ser objeto de interesse da sociedade, vem recebendo uma crescente atenção por parte da ciência. Assim, grande quantidade de pesquisas têm surgido nas últimas décadas com o intuito de elucidar os mecanismos do envelhecimento (RAPP & AMARAL, 1992). Desse modo, são freqüentes os estudos que relatam alterações anatômicas como, por exemplo, a diminuição do tamanho do rim (MEYER, 1989) e atrofia cerebral (CREASEY & RAPOPORT, 1985), alterações histológicas como o declínio do número de neurônios no encéfalo humano (CREASEY & RAPOPORT, 1985), e modificações bioquímicas como a diminuição das enzimas hepáticas com o avançar da idade (KITANI, 1992).

Entre as muitas modificações neuroquímicas ocorridas no idoso, há relatos da diminuição do conteúdo de

vários neurotransmissores e suas respectivas enzimas de síntese, tanto em animais como em humanos (SAMORAJSKI, 1977; CÔTÉ & KREMZNER, 1983; WALLIN & GOTTFRIES, 1990). Alguns estudos mostram diminuição de receptores dopaminérgicos, glutamatérgicos e colinérgicos, entre outros, com o avançar da idade (PRADHAN, 1980; PEDIGO et al., 1984; PILCH & MULLER, 1988).

No campo comportamental, as pesquisas relatam diminuição da aprendizagem e memória, tanto em animais como em humanos (BARTUS et al., 1982; MARTINEZ & RIGTER, 1983; RAPP et al., 1987), além de alterações da coordenação motora (GOLDMAN & CÔTÉ, 1991), do sono (HAPONICK, 1992; CAMPBELL et al., 1993), do humor (BATTISTIN et al., 1987; GOLDMAN & CÔTÉ, 1991) e depressão (HENDERSON, 1986), entre outros.

Há inúmeras pesquisas a respeito da farmacocinética das drogas, no organismo do idoso que mostram modificações na biodisponibilidade das mesmas (GORDON & PREIKSAITIS, 1988; GARIEPY et al., 1993), resultando em concentrações elevadas e proporcionando aumento da resposta (RAMOS et al., 1993). Por outro lado, a pesquisa farmacológica nos últimos anos busca novos agentes que aumentem a capacidade cognitiva dos idosos (SCHINDLER, 1989; AMAGAYA et al., 1990; FLOOD & MORLEY, 1990; MAGNANY et al., 1992).

## **I.2 - MUDANÇAS NO SISTEMA NERVOSO CENTRAL DECORRENTES DO ENVELHECIMENTO**

Devido à relevância das alterações que ocorrem no envelhecimento, as quais poderiam explicar os distúrbios físicos e psíquicos observados em animais e humanos idosos, citaremos a seguir algumas das modificações mais relatadas nas últimas décadas. Esta revisão não tem caráter global, isto é, não abrange todos os tipos e formas de alterações que ocorrem no organismo de animais e humanos idosos, e conseqüentemente não torna-se exaustiva, mas objetiva apenas a exemplificação destas alterações.

A grande maioria dos trabalhos evidenciou a ocorrência de alterações em animais e humanos idosos (STRONG et al., 1980; PEDIGO et al., 1984; ORDY et al., 1988; WALLIN & GOTTFRIES, 1990; CASTORINA & FERRARIS, 1994), embora existam estudos que não confirmem estas observações ((WALLACE et al., 1980), sendo que estas discrepâncias provavelmente devem-se às diferenças na raça/espécie, sexo, idade, amostra do tecido e procedimentos de avaliação (MULLER et al., 1991b; IKARASHI et al., 1994).

Os relatos descritos a seguir não incluem as modificações ocorridas no Sistema Colinérgico, sendo este assunto abordado mais adiante .

### **I.2.1 - ALTERAÇÕES MORFO-FUNCIONAIS**

Há numerosos estudos que relatam modificações anatômicas, histológicas e bioquímicas, levando geralmente à diminuição da função (MEYER, 1989).

Inúmeros estudos "post-mortem" indicam que o peso do cérebro de humanos idosos é de 7 a 8 % menor, comparando-se com indivíduos mais jovens (CREASEY & RAPOPORT, 1985). Há relatos de atrofia do hipocampo (GOLOMB et al., 1993) e dilatação dos ventrículos cerebrais com o passar da idade (CREASEY & RAPOPORT, 1985).

Em indivíduos idosos o número de neurônios é menor em muitas áreas como, por exemplo, o locus coeruleus, a amígdala, a substância inominata, a substância negra, o estriado e tálamo (McGEER et al., 1984; KUBANIS & ZORNETZER, 1981; CREASEY & RAPOPORT, 1985). Das 400.000 células presentes na substância negra de seres humanos, menos de 200.000 permanecem no indivíduo com 75 anos de idade (DORCE, 1990; OSSOWSKA, 1993). Outro estudo mostra redução de até 54% no número de células em determinadas regiões do córtex (CREASEY & RAPOPORT, 1985). Ocorre ainda diminuição das células hipocâmpais (KUBANIS & ZORNETZER, 1981; KADAR et al., 1990) e das do estriado (ALTAVISTA et al., 1988) em ratos idosos.

Do ponto de vista funcional, o envelhecimento está associado a uma perda progressiva da função motora, que se manifesta através de alterações da marcha e postura,

equilíbrio, coordenação motora, etc. (FINCH et al., 1981; GOLDMAN & CÔTÉ, 1991; OSSOWSKA, 1993).

### **I.2.2 - ALTERAÇÕES NEUROQUÍMICAS**

Ocorrem muitas alterações neuroquímicas no organismo idoso, porém citaremos, aqui, apenas algumas delas:

*Neurotransmissores* - O conteúdo de dopamina, noradrenalina, serotonina, ácido glutâmico e GABA, encontra-se diminuído no hipotálamo, estriado e outras áreas do sistema nervoso central, tanto em roedores quanto em humanos (PRADHAN, 1980; CREASEY & RAPOPORT, 1985; PETKOV et al., 1988; WALLIN & GOTTFRIES, 1990; OSSOWSKA, 1993). O HVA (ácido homovanílico), metabólito da dopamina, também se encontra reduzido em algumas áreas do encéfalo humano (PRADHAN, 1980).

*Enzimas de síntese* - A atividade da tirosina-hidroxilase e da descarboxilase dos aminoácidos aromáticos (DAAA) encontra-se reduzida no núcleo caudado e tubérculo olfatório de roedores idosos (PRADHAN, 1980) e no núcleo caudado, putamen e substância negra de humanos idosos (SAMORAJSKI, 1977; CÔTÉ & KREMZNER, 1983; CREASEY & RAPOPORT, 1985). As atividades da dopamina B-hidroxilase em hipotálamo (PRADHAN, 1980) e da descarboxilase do ácido glutâmico (GAD), no núcleo caudado, encontram-se diminuídas em ratos idosos



(PRADHAN, 1980), como também na substância negra, córtex frontal (CÔTÉ & KREMZNER, 1983) e tálamo de humanos idosos (CREASEY & RAPOPORT, 1985). A atividade da triptofano-hidroxilase encontra-se diminuída no hipocampo, ponte e núcleos da Rafe de ratos idosos (PRADHAN, 1980).

*Enzimas de metabolização* - Em contraste ao ocorrido com as enzimas de síntese, nota-se que no encéfalo de ratos idosos, há aumento da monoamino-oxidase (MAO) e também da catecol-o-metil-transferase. É relatado um aumento da atividade da MAO em hipotálamo, córtex frontal, núcleo caudado, hipocampo e globo pálido de humanos idosos (PRADHAN, 1980).

*Captação de neurotransmissores* - Com preparações envolvendo sinaptosomas há diminuição da captação de dopamina e noradrenalina no hipotálamo, estriado e cérebro total de camundongos (PRADHAN, 1980), e do ácido glutâmico no córtex de ratos idosos (OSSOWSKA, 1993).

Em trabalho com o putamen de humanos com idade entre 19 e 88 anos evidenciou-se uma redução nos sítios de recaptação de dopamina (DE KEYSER et al., 1990).

*Receptores* - Com a maioria dos estudos observa-se diminuição na densidade de receptores ( $B_{max}$ ). Os dados referentes à afinidade do receptor são conflitantes,

pois alguns autores encontraram aumento de afinidade (STRONG et al., 1980; YUFU et al., 1994), enquanto outros não observaram mudanças (PEDIGO et al., 1984; PINTOR et al., 1988; CASTORINA & FERRARIS, 1994).

Ocorre diminuição de receptores dopaminérgicos e serotoninérgicos no estriado de humanos com o avançar da idade (WANG et al., 1995).

Assim, há redução de receptores GABA no cérebro de ratos idosos (CASTORINA & FERRARIS, 1994) e está descrito também diminuição de receptores B-adrenérgicos no cerebelo de humanos idosos (MAGGI et al., 1979). Encontrou-se ainda que receptores serotoninérgicos estão diminuídos no estriado de ratos idosos (PETKOV et al., 1988). O mesmo acontece para receptores dopaminérgicos D<sub>1</sub> e D<sub>2</sub> em estriado de ratos (GIMENEZ et al., 1991), para núcleo caudado e putamen de humanos idosos (RINNE, 1987; PETKOV et al., 1988; OSSOWSKA, 1993; CASTORINA & FERRARIS, 1994), e para receptores glutamatérgicos no hipocampo de ratos (TAMARU et al., 1991; CASTORINA & FERRARIS, 1994) e humanos idosos (OSSOWSKA, 1993).

### **I.2.3) ALTERAÇÕES COMPORTAMENTAIS**

Em humanos idosos ocorrem distúrbios de atenção e vigilância, depressão (HENDERSON, 1986), alterações do sono (CAMPBELL et al., 1993), do humor (BATTISTIN et

al., 1987; GOLDMAN & CÔTÉ, 1991), entre outras mudanças comportamentais. Existem também evidências de que há declínio da capacidade de memória e aprendizagem em indivíduos idosos normais (McENTEE, & CROOK, 1990). Na verdade, a diminuição de memória ocorre na maioria dos mamíferos com o avanço da idade (BARTUS et al., 1982; McENTEE & CROOK, 1990). Vários estudos têm demonstrado prejuízo de memória em testes com roedores idosos (FREUND, 1980), incluindo parâmetros como: teste de esquiwa passiva em ratos (DRAGO et al., 1990; MATSUOKA et al., 1992; RIEKKINEN et al., 1992; MIETTINEN et al., 1993); teste de esquiwa ativa em camundongos e ratos (KUBANIS et al., 1981; KUBANIS & ZORNETZER, 1981; DRAGO et al., 1990; GHIRARDI et al., 1992); labirinto radial e labirinto aquático de MORRIS, em que se verifica prejuízo da memória em ratos (TOLEDO-MORREL et al., 1984a; TOLEDO-MORREL et al., 1984b; RIEKKINEN et al., 1992; MIETTINEN et al., 1993). Nesse sentido, CAPRIOLI et al. (1990), utilizando-se de um labirinto de 8 braços, observou que havia prejuízo de aprendizagem em ratos Sprague-Dawley de 28 meses de idade. Demonstrou-se que ratos idosos apresentaram prejuízo na aquisição (MARKOWSKA et al., 1995) e na retenção de memória (OHTA et al., 1991) em um labirinto em T. Por fim, pode-se também citar um déficit na tarefa de alternância espontânea observada em labirinto em forma de Y (POTIER et al., 1992).

Testes que avaliam memória a curto e longo prazo também indicaram prejuízo no desempenho de humanos idosos (KUBANIS & ZORNETZER, 1981; RAPP & AMARAL, 1992).

### **I.3 - SISTEMA COLINÉRGICO**

#### **I.3.1 - ASPECTOS FUNCIONAIS**

A acetilcolina é produto da reação entre a colina e a acetil coenzima A, catalisada pela enzima colina-acetil-transferase (LEFKOWITZ, 1990; PALACIOS et al., 1991).

O grupo acetil da acetilcolina em cérebro de mamíferos origina-se da glicose e do piruvato (TUCEK, 1985). A colina no fluido cerebral é oriunda da colina livre presente no plasma, da hidrólise intracelular de fosfolipídios (TUCEK, 1985; RYLETT & SCHMIDT, 1993), e da hidrólise extracelular da acetilcolina liberada nas sinapses colinérgicas (TUCEK, 1985).

A acetilcolina armazenada em vesículas sinápticas, após ser liberada, é hidrolisada por uma enzima, a acetilcolinesterase (colinesterase verdadeira), tendo como metabólitos a colina e o acetato. No organismo há também as pseudo-colinesterases que são inespecíficas (LEFKOWITZ, 1990).

Há evidências de carreadores específicos de alta afinidade (dependente de sódio) para captação de colina

na superfície das membranas de terminais colinérgicos (TUCEK, 1990; COOPER & BLOOM, 1991).

Os receptores colinérgicos classificam-se em nicotínicos e muscarínicos (LEFKOWITZ, 1990). Os primeiros são constituídos de subunidades protéicas formando canais iônicos e os outros estão acoplados à proteína G (LEFKOWITZ, 1990; JONES, 1993). Quanto aos subtipos de receptores nicotínicos, temos o receptor nicotínico muscular(NM) e o nicotínico neuronal(NN). Os subtipos de receptores muscarínicos definidos farmacologicamente são o M1, M2 e M3 (LADINSKY et al., 1990; LEFKOWITZ, 1990), enquanto aqueles descobertos pela clonagem são designados de m1, m2, m3, m4 e m5 (JONES, 1993; LEVEY, 1993).

### **I.3.2 - LOCALIZAÇÃO DOS NEURÔNIOS COLINÉRGICOS**

Segundo FIBIGER, DAMSMA, DAY (1991), os neurônios colinérgicos no Sistema Nervoso Central estão subdivididos em 4 grupos principais:

(1) Neurônios do Prosencéfalo basal que são constituídos pelos neurônios colinérgicos do núcleo septal medial, núcleo da Banda Diagonal de Broca e núcleo basalis de Meynert/substância inominata. Estes neurônios emitem grandes projeções telencefálicas, incluindo aquelas que atingem o córtex e o hipocampo.

(2) Interneurônios colinérgicos que estão localizados em regiões ricas em dopamina, como o caudado-putamen, o núcleo acumbens e o tubérculo olfatório.

(3) Neurônios Colinérgicos do grupo Meso-pontino tegmentar, que estão localizados no mesencéfalo e na ponte.

(4) Motoneurônios somáticos do núcleo craniano motor e medula espinhal.

Em algumas espécies de animais têm sido identificados neurônios colinérgicos também na habênula, hipotálamo lateral, córtex cerebral e hipocampo.

### **I.3.3 - SISTEMA COLINÉRGICO E COMPORTAMENTO**

Muitos estudos sugerem o envolvimento do sistema colinérgico com os processos de aprendizagem e memória (BRANDEIS et al., 1990; ANDREWS et al., 1994). Sabe-se que antagonistas colinérgicos, tais como a escopolamina e a pirenzepina, prejudicam o desempenho de animais e humanos submetidos a tarefas que avaliam a memória (BARTUS et al., 1982; BARTOLINI et al., 1992; ANDREWS et al., 1994). O mesmo foi observado com o hemicolinio, um bloqueador da captação de colina (ANDREWS et al., 1994). Já os agonistas colinérgicos melhoram o desempenho de animais em tarefas que envolvem aprendizagem e memória (STRATTON & PETRINOVICH, 1963). Desse modo, BRANDEIS et al. (1990) avaliando o efeito do

AF102B, um agonista colinérgico seletivo M1, em tarefa de labirinto radial de 8 braços, verificou facilitação no aprendizado de ratos idosos. A fisostigmina, agonista indireto, foi capaz de induzir uma aceleração da aprendizagem de ratos selecionados geneticamente, para mal desempenho em tarefa de um labirinto (STRATTON & PETRINOVICH, 1963).

Há citações de estudos mostrando o papel deste sistema na atividade motora (CLARKE & KUMAR, 1983; NORDBERG & BERGH, 1985), catalepsia (KLEMM, 1983), depressão (MULLER, 1991a), analgesia (PEDIGO et al., 1984), agressividade (GIANUTSUS & LAL, 1977), comportamento sexual (DOHANICH et al., 1991) e temperatura corporal (RESUL et al., 1982; MARTIN et al., 1984).

Em relação ao interesse do presente estudo existem trabalhos mostrando que o sistema colinérgico está envolvido em fenômenos como o tremor, considerado por autores como parâmetro para avaliação da atividade colinérgica central (WEINSTOCK, 1978; MARTIN et al., 1984; RESUL et al., 1982; SANTOS & CARLINI, 1988a).

Acredita-se que o mesmo é originado no estriado, que compreende o caudado e o putamen (SLATER & DICKINSON, 1982), os quais possuem estruturas motoras somáticas, onde se observa que lesões nesta área têm sido associadas a distúrbios de movimento (Machado, 1993). É sabido que o tremor resulta de estimulação de receptores

muscarínicos no sistema nervoso central, pois não é abolido pela metilatropina - a qual não ultrapassa a barreira hemato-encefálica - todavia é inibido pela atropina (WEINSTOCK et al., 1978).

O sistema colinérgico também está envolvido com a cromodacriorréia ou lacrimejamento vermelho, o qual é proveniente da secreção da glândula de Harder encontrada na órbita ocular de ratos. As lágrimas adquirem cor pela presença da porfirina, um pigmento avermelhado que aparece quando estas glândulas são estimuladas por agonistas colinérgicos muscarínicos (MARTIN et al., 1984; SANTOS & CARLINI, 1988b; CLEMENT, 1994).

#### **I.4 - SISTEMA COLINÉRGICO E ENVELHECIMENTO**

Existem também dados discrepantes sobre o sentido das alterações do sistema colinérgico com o envelhecimento (OSSOWSKA, 1993; MULLER et al., 1991b). A seguir serão descritas as alterações do sistema colinérgico que, a nosso ver, estariam reproduzindo a predominância dos trabalhos referentes às mudanças ocorridas com o passar da idade.

**I.4.1 - Alterações morfológicas** - O envelhecimento cerebral é acompanhado por uma redução de neurônios colinérgicos, ocorrendo tanto em animais quanto em



humanos (McGEER, 1984; BIGL et al., 1987; QUIRION et al., 1990; MULLER et al., 1991b).

#### **I.4.2 - Alterações neuroquímicas**

*Síntese*- A síntese de acetilcolina fica diminuída em córtex de animais e humanos (BIGL et al., 1987; MULLER et al., 1991b; OSSOWSKA, 1993). Um estudo com ratos idosos (28 meses) revelou significativa diminuição do conteúdo de acetilcolina no hipocampo e estriado (IKEGAMI, 1994).

*Enzimas* - Vários autores relataram em ratos idoso, diminuição da atividade da colina-acetil-transferase no hipocampo (OSSOWSKA, 1993) e em regiões do prosencéfalo (ARAÚJO et al., 1990). Já em humanos idosos, o mesmo ocorreu no córtex (McGEER, 1984; QUIRION et al., 1990) e núcleo caudado (SAMORAJSKI, 1977). Encontrou-se declínio da acetilcolinesterase no córtex cerebral de ratos idosos (BISSO et al., 1991).

*Liberção de acetilcolina* - Ocorre diminuição da liberação de acetilcolina, estimulada por corrente elétrica ou pelo potássio, em fatias e sinaptossomas de hipocampo e córtex de animais idosos (DECKER, 1987; ARAÚJO et al., 1990; MULLER et al., 1991b).

*Captação do precursor* - A captação da colina no hipocampo de ratos idosos está diminuída (KUBANIS et al., 1981; HOCK, 1987; MULLER et al., 1991b).

*Receptores* - Há relatos de diminuição de receptores muscarínicos no córtex, hipocampo e estriado de camundongos (KUBANIS et al., 1981; PILCH & MULLER, 1988; POPOVA & PETKOV, 1988; GIMENEZ et al., 1991) e no prosencéfalo, córtex, hipocampo e estriado de ratos (SURICHAMORN et al., 1988; POPOVA E PETKOV, 1989; SCHWARZ, 1990; MULLER et al., 1991b; OSSOWSKA, 1993; AMENTA et al., 1994) e humanos idosos (NORDBERG & WINBLAD, 1981; HOCK, 1987; BIEGON et al., 1988; OHNUKI & NOMURA, 1991). Receptores nicotínicos declinam, consideravelmente, em animais e humanos idosos (NORDBERG & WINBLAD, 1981; ARAÚJO et al., 1990). RINNE (1987) observou que em 78 amostras de cérebros de indivíduos de 4 a 93 anos de idade, o número de receptores muscarínicos no hipocampo declinava, com a idade, cerca de 4,2 a 6,9% por década.

Em relação aos subtipos de receptores temos a redução de receptores M1 no córtex (SCHWARZ, 1990), corpo estriado e hipocampo nos ratos idosos (SCHULZE & SIEBEL, 1989) e no córtex cerebral nos humanos idosos (QUIRION et al., 1990). Notou-se redução severa de receptores muscarínicos do tipo M2 no hipocampo, estriado, córtex e

tálamo nos ratos idosos (ARAÚJO et al., 1990) e no neocórtex nos humanos idosos (QUIRION et al., 1990).

A plasticidade (capacidade de um sistema neurotransmissor em aumentar ou diminuir o número de receptores em resposta a períodos de hiper ou hipo funcionamento) dos receptores muscarínicos também está reduzida no córtex frontal de camundongos (PILCH & MULLER, 1988) e no cérebro de ratos idosos (MULLER et al., 1991b).

A função do receptor colinérgico, medida através de técnicas eletrofisiológicas, encontra-se reduzida com o passar da idade (HOCK, 1987; MULLER et al., 1991b).

## **I.5 - HIPÓTESE COLINÉRGICA DO PREJUÍZO DE MEMÓRIA ASSOCIADO À IDADE**

Há fortes evidências do papel do sistema colinérgico no comportamento cognitivo, envolvendo funções da aprendizagem e memória (BARTUS et al., 1982; FLOOD et al., 1983; HAROUTUNIAN et al., 1985; BIGL & ARENDT, 1991; GELBMANN & MULLER, 1991; NABESHIMA, 1993; TAYLOR & GRIFFITH, 1993). Parece provável que este sistema exerça um papel importante na formação da memória, já que drogas anticolinérgicas, como anteriormente citado, causam prejuízo de memória (KUBANIS et al., 1981; HOCK, 1987; ANDREWS et al., 1994). Além disso, a estimulação deste

sistema por agonistas diretos e drogas que inibem a acetilcolinesterase, podem facilitar o processo de memória, tanto em animais quanto em humanos (STRATTON & PETRINOVICH, 1963; KUBANIS et al., 1981; BARTUS et al., 1982; HOCK, 1987; BRANDEIS et al., 1990). A destruição de certas áreas do SNC ricas em neurônios colinérgicos pode também levar a déficits cognitivos (PEPEU, 1988). Muitas das recentes evidências que apoiam esta relação (sistema colinérgico - aprendizagem e memória), também derivam do fato da existência de uma relação quantitativa entre o déficit colinérgico e o prejuízo cognitivo observado em pacientes com a Doença de Alzheimer (Perry et al., 1978).

Com o passar da idade é notado que ambos, sistema colinérgico e memória, estão diminuídos (KUBANIS & ZORNETZER, 1981; FLOOD et al., 1983; HOCK, 1987).

Os estudos mostram ainda que o déficit colinérgico exerce um papel importante no prejuízo de memória associado à idade (HOCK, 1987; BIEGON et al., 1988). Desse modo, DUNNET et al. (1988a) mostram, em seu estudo, que a performance de memória, em ratos idosos, pôde ser melhorada através do implante de tecido fetal cerebral rico em células colinérgicas. Um dado farmacológico interessante é obtido em estudos com macacos idosos. Estes revelam marcante semelhança no déficit de memória quando comparados aos macacos jovens que recebiam escopolamina, e cujo déficit era revertido

por fisostigmina (BARTUS et al., 1982). O mesmo fato observa-se em seres humanos (DRACHMAN & LEAVITT, 1974). Em conclusão, uma série de evidências bioquímicas e farmacológicas suportam deste modo o papel da disfunção colinérgica em distúrbios de memória associados à idade (BARTUS et al., 1982; BIGL et al., 1987; SURICHAMORN et al., 1988; INGRAM et al., 1994).

#### **I.6 - EFEITOS DE DROGAS COLINÉRGICAS EM RATOS IDOSOS**

Como já foi visto há várias evidências do comprometimento do sistema colinérgico em animais e humanos idosos. Além disso, detectam-se modificações na função colinérgica, com o avançar da idade, através de respostas comportamentais às drogas que atuam neste sistema (RETZ et al., 1987). Entretanto, poucos estudos têm, sistematicamente, investigado este fenômeno (SHERMAN & FRIEDMAN, 1990), sendo que os estudos existentes nesta área são escassos e conflitantes.

SHERMAN & FRIEDMAN (1990) propõem que, com o passar da idade, haja um aumento da sensibilidade a antagonistas colinérgicos, devido, entre outras coisas, à menor concentração de acetilcolina disponível para competir com o antagonista pela ocupação do receptor. Contudo, encontram-se dados contraditórios, pois estudos mostram que escopolamina prejudica mais a memória de ratos

idosos (28-34 meses) que a dos jovens (ORDY et al., 1988), enquanto há relato de que os ratos de ambas as idades reagem semelhantemente (SPANGLER et al., 1989), ou ainda que ratos idosos são menos sensíveis em relação a comportamento espontâneo, como é o caso de atividade locomotora e "grooming" social (PEDIGO et al., 1984; SOFFIÉ & BRONCHART, 1988).

Por outro lado, pode haver diminuição do efeito de agonistas diretos e de inibidores da acetilcolinesterase devido à perda de receptores e da diminuição na liberação de acetilcolina (SHERMAN & FRIEDMAN, 1990). Novamente observam-se dados conflitantes. Em estudos avaliando os efeitos de tremor, hipotermia, analgesia e respostas motoras, notou-se maior sensibilidade a agonistas diretos e indiretos (PEDIGO et al., 1984; PEDIGO, 1988; PINTOR et al., 1988; SONCRANT et al., 1989) e sensibilidade diminuída ou ausente (FINCH et al., 1981; MARTIN et al., 1985). Entretanto, em estudos envolvendo parâmetros cognitivos, fisostigmina melhorou o desempenho de ratos idosos e não teve efeito em ratos jovens (OHTA et al., 1991; ORDY et al., 1988), embora outros autores mostrassem que nem fisostigmina nem arecolina foram capazes de mostrar diferenças nas respostas obtidas entre ratos jovens e idosos (GAGE & BORKLUND, 1986; DUNNET et al., 1988b).

## **II-O B J E T I V O**

Sabendo que poucos estudos têm sistematicamente estudado a resposta farmacológica de drogas que agem sobre o sistema colinérgico em função da idade, o presente estudo visa:

1 - Investigar o sistema colinérgico central em ratos jovens e idosos através do tremor provocado pela oxotremorina;

2 - Investigar o sistema colinérgico periférico em ratos jovens e idosos, através da avaliação da cromodacriorréia, induzida pelo mesmo agonista muscarínico;

3 - Avaliar o efeito da oxotremorina no desempenho de animais jovens e idosos numa tarefa de memória, utilizando o labirinto em T.

### III - MATERIAL E MÉTODOS

**III.1 - ANIMAIS** - Foram utilizados ratos albinos machos, da raça Wistar, com idade entre 3-6 meses (animais jovens) e 24-30 meses (animais idosos). O peso dos jovens variou entre 230-340g e o dos idosos entre 330-370g. Nas gaiolas-viveiro (30 x 16 x 18 cm) os animais foram alocados em grupos de três e tinham livre acesso a comida e água, com ciclo claro-escuro de 12 horas (ciclo claro: 7:00 - 9:00 h). O ambiente foi mantido à temperatura de  $23 \pm 2$  °C.

**III.2 - DROGAS** - A Oxotremorina (sesquifumarato) (1-[4-(1-pirrolidinil-2-butinil]-2-pirrolidinona) foi obtida do Laboratório Sigma Chemical Company e a sua solução preparada em salina, imediatamente antes da realização dos experimentos.

Esta droga é considerada um agonista colinérgico muscarínico de ação direta (RESUL et al., 1982; RINGDAHL, 1983). Por ter na sua estrutura uma amina terciária, penetra facilmente no SNC, sendo então uma das drogas de escolha para verificar efeito muscarínico central (RINGDAHL, 1983).



### III.3 - METODOLOGIA

**III.3.1 - TREMOR** - O tremor é considerado como um parâmetro para avaliação da atividade muscarínica central (WEINSTOCK, 1978; MARTIN et al., 1984; SANTOS & CARLINI, 1988).

Quarenta e três ratos jovens e quarenta e um idosos foram empregados neste teste. Os animais foram tratados com 0,25 (13 jovens e 11 idosos), 0,5 (10 e 10) e 1,0 (20 e 20) mg/kg de oxotremorina, via intraperitonial. A seguir foram colocados em gaiolas de arame (30 x 15 x 15 cm) e anotou-se o tempo (segundos) entre a administração da droga e o aparecimento do primeiro tremor (Latência do Tremor), como também o tempo em segundos que o animal permanecia tremendo. A Intensidade do Tremor foi quantificada (medida em graus) segundo a escala de tremor de SANTOS & CARLINI (1985) descrita abaixo:

**Grau 0** - Ausência de tremor;

**Grau 1** - Tremores esporádicos da cabeça (menos de 5 tremores e cada tremor com duração inferior a 1 minuto);

**Grau 2** - Tremores esporádicos da cabeça (número de tremores igual ou maior que 5 e cada tremor com duração inferior a 1 minuto);

**Grau 3** - Tremores contínuos da cabeça (duração de cada tremor superior a 1 minuto);

**Grau 4** - Tremores contínuos da cabeça e tremores esporádicos do corpo (menos de 5 tremores de corpo com cada um deles tendo duração inferior a um minuto);

**Grau 5** - Tremores contínuos da cabeça e tremores esporádicos do corpo (número de tremores do corpo igual ou maior que 5 com cada um deles tendo duração inferior a 1 minuto);

**Grau 6** - Tremores contínuos da cabeça e do corpo (duração dos tremores (da cabeça e do corpo) superior a 1 minuto).

A intensidade e o tempo de tremor foram observados durante os períodos 5-10, 25-30 e 55-60 minutos após a administração da droga.

Este experimento foi realizado entre as 8:00 e as 11:00 h.

**III.3.2 - CROMODACRIORRÉIA** - A cromodacriorréia, ou lacrimejamento vermelho, é proveniente da secreção das glândulas de Harder, que são encontradas nas órbitas oculares de ratos. As lágrimas adquirem cor pela presença de porfirina, um pigmento avermelhado que aparece quando estas glândulas são estimuladas por agonistas colinérgicos muscarínicos (MARTIN et al., 1984; SANTOS & CARLINI, 1988b; CLEMENT, 1994).

Foram utilizados os mesmos animais e doses empregados na medida do tremor, sendo os animais observados para lacrimejamento vermelho aos 20 minutos pós-injeção. A medida da cromodacriorréia foi simultânea a do tremor.

A cromodacriorréia foi avaliada em graus, de acordo com a escala de SANTOS & CARLINI(1988b), vista a seguir:

**Grau 0** - Ausência de lacrimejamento;

**Grau 1** - Presença de lacrimejamento pouco intenso em um olho;

**Grau 2** - Presença de lacrimejamento pouco intenso nos dois olhos;

**Grau 3** - Presença de lacrimejamento intenso em um olho e pouco intenso no outro;

**Grau 4** - Presença de lacrimejamento intenso nos dois olhos.

### **III.3.3 - LABIRINTO EM T**

#### **Animais**

Vinte e quatro ratos jovens e vinte e dois ratos idosos foram utilizados no início do experimento.

#### **Drogas**

Os animais foram tratados intraperitonealmente com 0,1 mg/Kg de oxotremorina e com solução salina.

#### **Aparelho**

Utilizou-se um labirinto em forma de cruz construído em madeira. Cada um dos 4 (quatro) braços tinha 60 cm de comprimento, 10 de largura, paredes com 3 de altura e possuindo uma plataforma de união entre os braços medindo 10x10. No final de cada braço existia uma cuba (caixa-alvo) em que se poderia depositar amendoim (alimento utilizado como recompensa a cada acerto). Blocos de madeira removíveis podiam ser colocados no trajeto dos corredores, de modo a fazer com que o labirinto tomasse a forma de um "T", ou mesmo para forçar o animal a permanecer em um dado segmento do aparelho quando necessário. Com o objetivo de prevenir pistas olfativas durante o treino (entre as corridas forçada e livre), o labirinto em cruz era ajustado de modo a alterar os braços que formavam o "T". O aparelho

ficou suspenso a 1 m do solo em uma sala repleta de pistas espaciais (janelas, estantes, etc.).

### **Manipulação e Privação de comida**

Cada animal foi manipulado fora do labirinto 1 minuto por dia durante 5 dias. A seguir os animais foram privados de comida até que seu peso chegasse a 85% do inicial. Durante a fase de privação os animais comiam cerca de 2 horas/dia, até que atingissem o peso desejado. Cerca de três dias antes do início da privação de alimento os animais passaram a receber também amendoim, além da ração normal, para se habituarem a este alimento.

### **Adaptação ao aparelho**

Um animal por vez era colocado no labirinto, com livre acesso a todos os braços e sem utilização de recompensa, por 5 minutos diários durante 5 dias. Em seguida o animal foi colocado nas caixas-alvo, onde o mesmo recebia amendoim, tendo este procedimento a duração de 1 minuto/dia, para cada uma das caixas-alvo, por um período de 5 dias.

### **Treino de Corrida Forçada**

A partir desta fase um bloco de madeira bloqueava um dos braços do labirinto em cruz modificando-o em forma de T.

Os animais foram colocados no braço-início com a passagem bloqueada. Após um período de 5 segundos o bloco era retirado permitindo o acesso do animal até uma das caixas-alvo onde o mesmo encontrava sua recompensa (amendoim), permanecendo ali por 30 segundos, sendo que o acesso à outra caixa-alvo era impedido por outro bloco de madeira.

O amendoim era depositado na cuba apenas quando o animal colocava as quatro patas cerca de 10 cm para o interior do braço.

Cada sessão consistia de 6 tentativas (corridas), 3 para o lado direito e 3 para o esquerdo, distribuídas aleatoriamente. Os animais foram treinados até atingirem um tempo de corrida em torno de 5 segundos, passando então para a fase seguinte.

### **Treino de aquisição da tarefa de ganha-troca ("win shift")**

Os animais foram submetidos a sessões diárias alternadas que eram compostas por 6 pares de corridas, sendo que na primeira corrida de cada par, o lado era sempre determinado pelo experimentador (corrida forçada) e a segunda (livre) realizada imediatamente após. Nesta corrida livre o animal recebia amendoim se fosse para o lado oposto ao da primeira corrida (acerto), se fosse para o mesmo lado (erro) ficaria confinado no final do braço por 30 segundos e não

receberia recompensa. Para cada sessão foi feito um sorteio que definia a sequência de lados da corrida forçada de modo balanceado, ou seja, que fossem 3 (três) corridas para a direita e 3 (três) para a esquerda.

Este procedimento foi executado até que cada animal alcançasse o critério de aprendizagem fixado em 5 sessões consecutivas com um nível de 6 acertos, ou 4 sessões com 6 acertos intercaladas com 1 sessão de 5 acertos. Nenhum animal recebeu menos de 10 sessões (mesmo que já tivessem atingido o critério) e os animais foram treinados até ao máximo de 30 sessões.

### **Teste com retardo**

Atingido o critério de aprendizagem os animais foram submetidos a testes com retardo. Desse modo foram introduzidos intervalos de tempo (1, 2, 4 e 8 minutos) entre a corrida forçada e a livre. Os animais foram submetidos a todos os intervalos de retardo e a sequência desses retardos determinada aleatoriamente.

Nesta fase foram realizadas sessões sem retardo entre aquela com retardo, objetivando a manutenção do desempenho do critério de aprendizagem alcançado, pois os retardos poderiam prejudicar o desempenho dos animais nas sessões posteriores.

### **Administração das drogas**

Após atingir o critério de aprendizagem os animais foram tratados, dois minutos antes de cada sessão de teste com retardo, com salina ou oxotremorina 0,1 mg/Kg, por via intraperitoneal. Anotava-se o número de acertos de cada rato.

Para evitar o possível efeito prejudicial da injeção sobre a performance dos animais , os mesmos foram tratados, por algumas sessões, com solução salina antes do início da fase de testes com retardo, que teria início logo que os animais, após a administração de salina, conseguissem 100 % de acerto em uma sessão.



### **III.4 - ESTATÍSTICA**

Os resultados da latência e do tempo de tremor foram analisados utilizando-se o teste t-Student para fazer comparações entre os grupos jovem e idoso.

A análise dos resultados de intensidade de tremor e cromodacriorréia foi feita aplicando-se o teste de Mann-Whitney, fazendo-se comparações entre o grupo jovem e o idoso.

A Análise dos acertos no labirinto em T foi feita através da ANOVA de 2 (aquisição) e 3 vias (testes com retardo). Realizou-se teste t-Student para amostras independentes com o intuito de analisar o tempo gasto para aprender a tarefa.

## IV-RESULTADOS

**Latência do tremor** - A latência para aparecimento do primeiro tremor produzido pela oxotremorina (Fig. 1), no grupo idoso, não foi significativamente diferente quando comparado à do grupo jovem em todas as doses testadas ( $t = 0,969$ ,  $p = 0,340$  para a dose de  $0,25$ ;  $t = 1,829$ ,  $p = 0,084$  para a dose de  $0,5$  e  $t = 0,397$ ,  $p = 0,694$  para a dose de  $1,0$  mg/Kg).

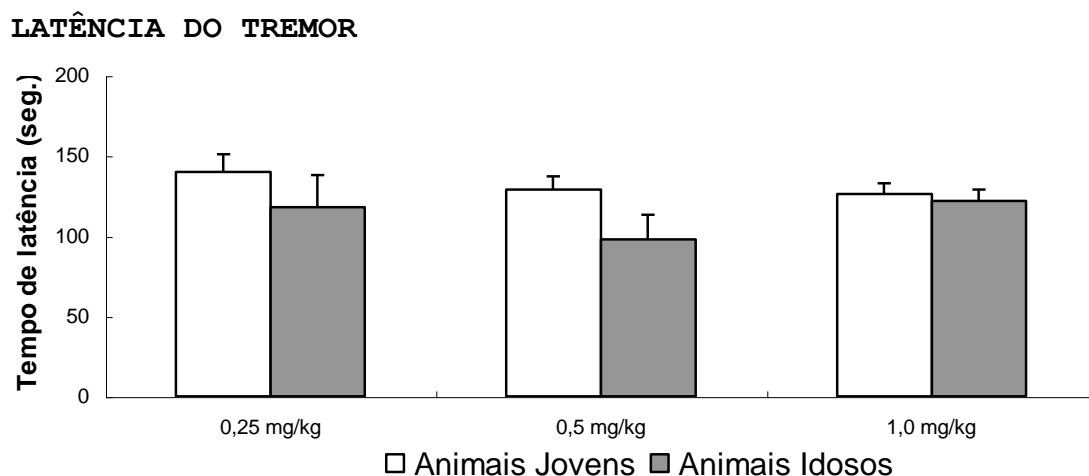


Fig. 1 - Latência de aparecimento do primeiro tremor em ratos jovens e idosos após tratamento agudo com oxotremorina. Os dados estão expressos em Média  $\pm$  ep.

**Intensidade de tremor** - No período de 5-10 minutos após o tratamento dos animais com oxotremorina  $0,25$ ;  $0,5$  e  $1,0$  mg/kg, conforme mostra a Figura 2, ocorreu um tremor significativamente mais intenso nos animais

idosos, em relação aos jovens, para as três doses testadas ( $U= 37$ ,  $p=0,0456$  para  $0,25$  mg/kg;  $U= 20$ ,  $p=0,0233$  para  $0,5$  mg/kg e  $U=86$ ,  $p= 0,002$  para  $1,0$  mg/Kg). Aos 25-30 min pós-tratamento, embora não houvessem diferenças estatisticamente significativas para as doses de  $0,25$  ( $U= 42,5$ ;  $p=0,0929$ ) e  $0,5$  mg/Kg ( $U= 25$ ;  $p= 0,0587$ ) - esta última dose situando-se no limite da significância -, os animais idosos apresentaram intensidade de tremor significativamente maior com a dose de  $1,0$  mg/Kg ( $U= 61,5$ ;  $p=0,0001$ ). As observações do tremor feitas no período 55-60 minutos após a administração de oxotremorina, mostraram, na sua grande maioria, o término do efeito da droga (estes dados não estão aqui representados).

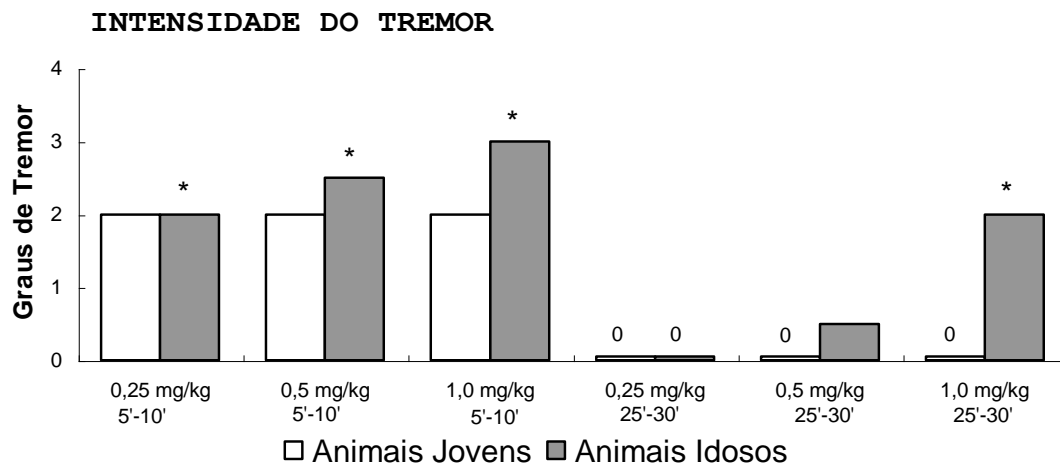


Fig. 2 - Intensidade do tremor medida em graus, nos ratos jovens e idosos após tratamento agudo com oxotremorina. Os dados estão expressos em mediana.

\*  $p \leq 0,05$

**Tempo de tremor** - Somando-se o tempo nas três medidas (5-10, 25-30 e 55-60 min) (Fig. 3), a oxotremorina nas doses de 0,25 ( $t = -2,749$ ,  $p = 0,012$ ), 0,5 ( $t = -4,554$ ,  $p = 0,000$ ) e 1,0 mg/Kg ( $t = -2,520$ ,  $P = 0,018$ ) agiu por tempo significativamente maior nos animais idosos em relação aos jovens, sendo este efeito dose-dependente.

#### TEMPO DE TREMOR

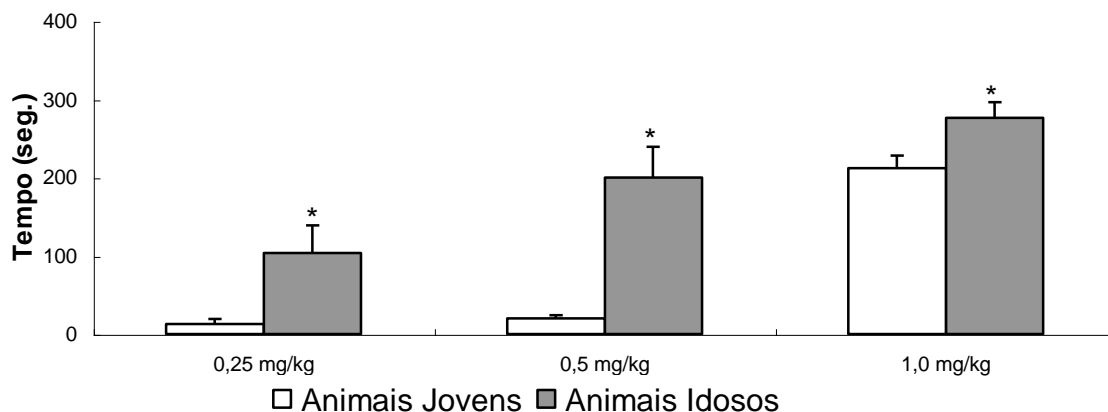


Fig. 3 - Somatória do tempo do tremor observado nos períodos 5-10, 25-30 e 55-60 min. após a administração de oxotremorina nos grupos jovem e idoso. Os dados estão expressos em média  $\pm$  ep.

\*  $p \leq 0,05$

**Cromodacriorréia** - Como pode ser visto na Figura 4, a intensidade de lacrimejamento vermelho induzido pela oxotremorina foi significativamente maior nos ratos idosos do que nos jovens, tendo ocorrido esta diferença nas doses de 0,5 (U= 21, p=0,02837). Entretanto, não houve diferença estatisticamente significativa nas doses de 0,25 (U= 58; p= 0,4341) e 1,0 mg/Kg (U= 133,5, p= 0,072).

#### CROMODACRIORRÉIA

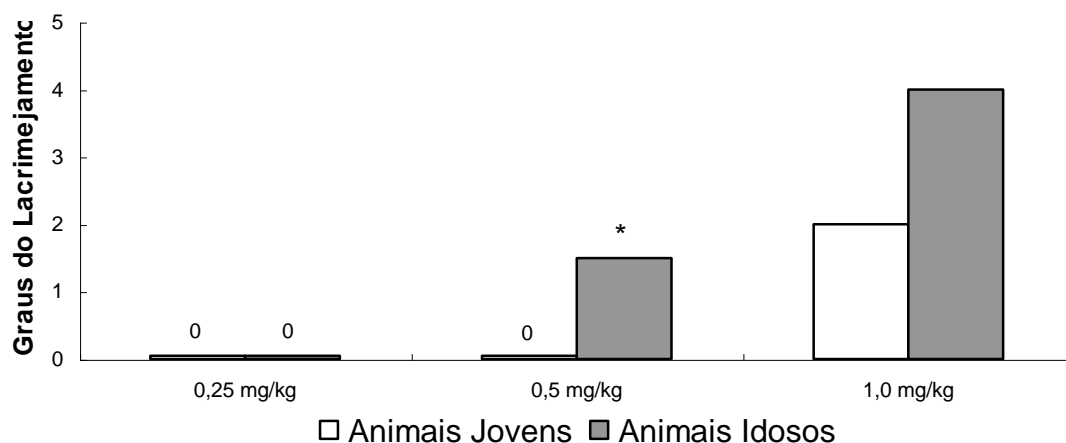


Fig. 4 - Intensidade de cromodacriorréia, medida em graus nos grupos jovem e idoso, após tratamento agudo com oxotremorina. Os dados estão expressos em Mediana.

\*  $p \leq 0,05$

**Labirinto em T** - O número de animais utilizados, para a análise dos dados da fase de aquisição da tarefa de ganha-troca, foi de 24 ratos jovens e 22 idosos.

Para a fase de retardo, 12 jovens e 7 idosos foram tratados com oxotremorina e quantidade semelhante de animais foi tratada com solução salina (11 e 7).

Cerca de 7 em 22 animais idosos e 1 em 24 animais jovens morreram durante o experimento e apenas 1 rato (idoso) não alcançou o critério de aprendizagem.

Os ratos idosos, como pode ser visto na Figuras 5 e 6, apresentaram retardo na aquisição da tarefa de ganha-troca no labirinto em T, em relação aos ratos jovens.

A Figura 5 mostra que o número de acertos do grupo jovem, ao longo de ~~as 10~~ ~~(dez)~~ primeiras ~~as~~ sessões, foi significativamente maior do que aqueles obtidos com o grupo idoso, ~~nas~~ as. Assim, a ANOVA de duas vias mostrou que os efeitos idade ( $F(1,35) = 18,393$ ;  $p = 0,0013$ ) e sessão ( $n^\circ$  de treinos) ( $F(9,315) = 6,6836$ ;  $p = 0,000$ ) foram significativos, ou seja, o grupo idoso teve uma percentagem de acertos menor do que o jovem. Esta diferença permaneceu nas dez primeiras sessões e à medida que aumentava o número de sessões, os grupos tendiam a melhorar o desempenho, apesar de não haver interação entre idade e número de treinos ( $F(9,315) = 1,519$ ;  $p = 0,1397$ ) nas 10 primeiras sessões. Os animais idosos, conforme pode ser visto na Figura 6, atingiram o

critério em 20 ensaios, enquanto que para os ratos jovens foram necessários apenas 13 para aprenderem a mesma tarefa, sendo esta diferença estatisticamente significativa ( $t = -4,121$ ,  $p = 0,000$ ).

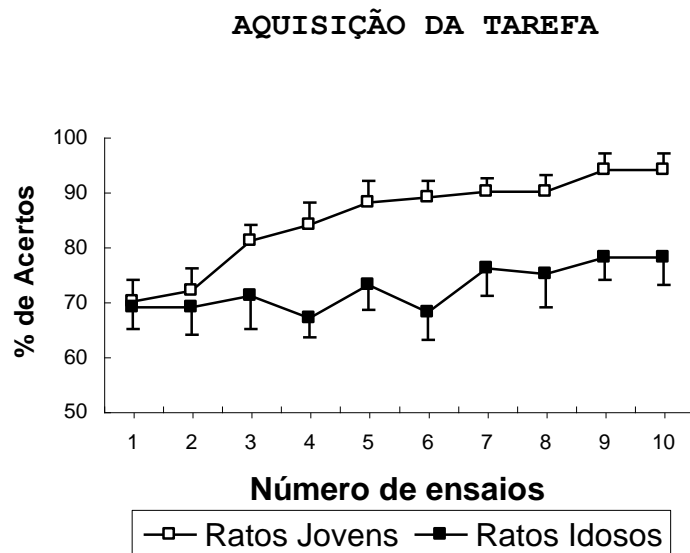


Fig. 5 - Desempenho de ratos jovens e idosos nas primeiras 10 sessões da tarefa de ganha-troca (*win-shift*) realizada no labirinto em T. Os dados estão expressos em Média  $\pm$  ep.

### NÚMERO DE ENSAIOS PARA APRENDER A TAREFA

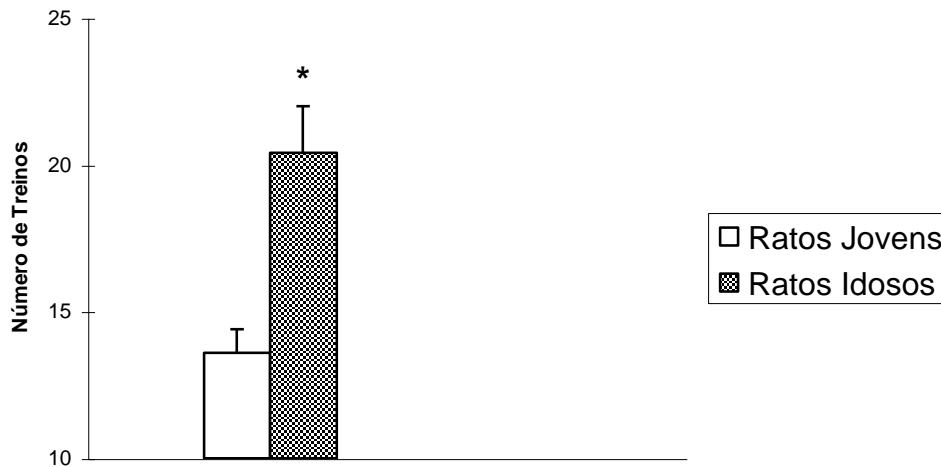


Fig. 6 - Número de sessões realizadas com ratos jovens e idosos para atingirem o critério de aprendizagem (95 a 100%). Os dados estão expressos em Média  $\pm$  ep.

\*  $p \leq 0,05$

Os resultados do teste com retardo (Fig. 7) mostram que, à medida que se aumenta o intervalo entre as corridas forçada e livre, há uma queda no desempenho dos animais (Efeito retardo-  $F(4,128) = 34,818$ ;  $p \leq 0,0001$ ). Entretanto, esta queda é igual para os animais idosos e jovens e a oxotremorina não melhorou o desempenho de nenhum dos grupos de animais (Efeito idade-  $F(1,32) = 0,0112$ ;  $p = 0,9160$ ; efeito tratamento-  $F(1,32) = 0,0928$ ;  $p = 0,762$ ).

—Além disso não houve interação entre os efeitos idade e tratamento ( $F(1,32) = 0,0000$ ;  $p = 0,994$ ); idade e retardo



( $F(4,128) = 0,2370$ ;  $p=0,917$ ); tratamento e retardo ( $F(4,128) = 0,7016$ ;  $p=0,592$ ) e idade, tratamento e retardo ( $F(4,128) = 0,6013$ ;  $p=0,662$ ).

### TESTE COM RETARDO

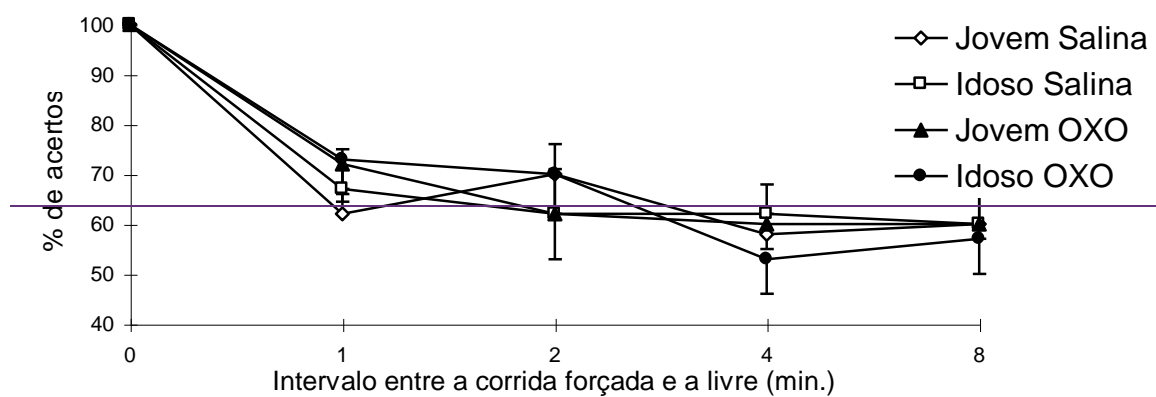
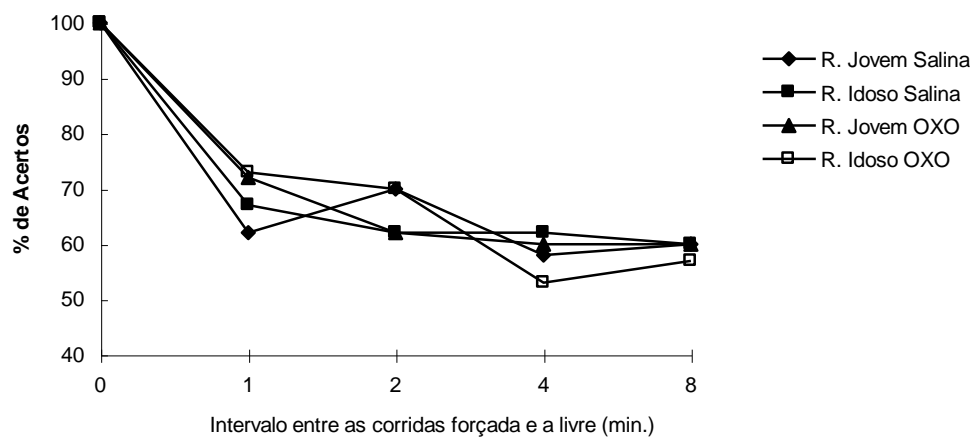


Fig. 7 - Efeito da oxotremorina 0,1 mg/kg no desempenho de ratos jovens e idosos na fase em que foram introduzidos retardos de 1, 2 4 e 8 minutos, entre as corridas forçada e livre.

## VI - DISCUSSÃO

O presente trabalho investigou o sistema colinérgico em ratos idosos e jovens, procurando verificar se, em caso de haver diferenças entre os dois grupos etários, estas atingiriam tanto a parte central quanto a periférica do referido sistema. Para tanto, utilizaram-se parâmetros que medem as atividades colinérgicas central (tremor e memória/aprendizagem) e periférica (cromodacriorréia), após administração aguda de um agonista colinérgico muscarínico de ação direta.

O tremor é um parâmetro usado para avaliar a atividade do sistema colinérgico central (RESUL et al., 1982; MARTIN et al., 1984; SANTOS & CARLINI, 1988a). Nossos resultados mostram que, o tremor induzido pela oxotremorina, foi significativamente mais intenso nos ratos idosos, em comparação com os ratos jovens. Além disso, a maior intensidade de resposta dos ratos idosos permaneceu por mais tempo, sendo observada mesmo 30 minutos após a administração da oxotremorina, (Fig. 2).

A Figura 3 mostra que, como foi visto na intensidade, os ratos idosos permaneceram por muito mais tempo em estado de tremor, quando se comparou com ratos jovens, nas 3 doses testadas, sendo esta diferença estatisticamente significativa.

Entretanto, a latência de aparecimento do tremor foi semelhante entre os ratos jovens e idosos. Isto indica, provavelmente, que a oxotremorina chegou ao seu sítio de ação, tanto nos ratos jovens quanto nos idosos, em tempos aparentemente iguais, sugerindo que a idade não altera os parâmetros farmacocinéticos de absorção e transporte desta droga. Assim, há discrepâncias na literatura sobre as alterações impostas pela idade na farmacocinética de drogas, desde que existem trabalhos negando alterações (LEMMENS et al., 1990; STIEJNEN et al., 1992), como também há relatos de alteração da farmacocinética de algumas drogas (RICHEY & BENDER, 1977; HERNADI, 1992; WILLIAMS & LOWENTHAL, 1992).

Os dados mencionados no tremor estão de acordo com os obtidos por outros autores, os quais observaram uma resposta aumentada à hipotermia, analgesia (PEDIGO et al., 1984; PEDIGO, 1988) e tremor (SONCRANT et al., 1989), em ratos idosos, após a administração de agonistas colinérgicos de ação direta. Além disso, SONCRANT et al. (1989) demonstraram que não havia diferenças farmacocinéticas entre os ratos jovens e idosos, o que foi confirmado pelas medidas da concentração plasmática e cerebral e meia-vida da droga, no caso, a arecolina.

Observou-se que a síndrome colinérgica induzida por agonistas indiretos, caracterizada pelos efeitos de tremor, salivação, lacrimejamento e diarreia, eram

maiores em ratos idosos, conforme mencionado no estudo realizado por PINTOR et al. (1988), utilizando o diisopropilfluorfosfato.

FERGUSON et al. (1985), avaliando a temperatura colônica de ratos adultos (15-18 meses de idade) e jovens (3-5 meses), observada após administração intracerebroventricular de carbacol, mostraram que ratos jovens estariam mais sensíveis a um agonista colinérgico. Nota-se, entretanto, que os animais utilizados no referido estudo não devem ser considerados idosos, pois a variável idade talvez seja a provável causa da divergência dos dados obtidos neste estudo, em relação aos nossos dados. Além disso, MARTIN et al. (1985) mostraram que não haviam diferenças na hipotermia induzida por oxotremorina 1,0 mg/kg, comparando ratos senescentes (34-40 meses) e adultos (8-9 meses). A variável idade poderia, também, ser a responsável pela divergência dos nossos resultados. Por outro lado, SOFFIÉ & BRONCHART (1988) sugeriram que o contraste dos resultados de diferentes autores também poderia ser devido às diferenças dos comportamentos estudados.

A resposta colinérgica periférica também se mostrou aumentada em ratos idosos, isto é, a cromodacriorréia foi mais intensa em ratos idosos, sendo este, na literatura, o primeiro relato do fenômeno.

Portanto, a nível periférico, a resposta de ratos idosos à oxotremorina foi semelhante àquela obtida a

nível central com a avaliação do tremor. Estes dados indicam que, tanto o sistema colinérgico periférico como o central, são afetados com a idade.

Embora os sistemas colinérgicos central e periférico possam estar alterados com a idade, não se pode afastar a possibilidade de que estas diferenças entre ratos jovens e idosos tenham um componente farmacocinético. Assim, existem dados mostrando que a absorção de algumas drogas está diminuída no idoso (WILLIAMS & LOWENTHAL, 1992), embora outros relatos não mostrem esta diferença para a grande maioria das drogas (REIDENBERG, 1983). Há trabalhos com animais idosos que revelam, dependendo da droga, tanto diminuição como aumento do volume de distribuição (REIDENBERG, 1983; GORDON & PREIKSAITIS, 1988). Mais consistentes são os dados mostrando metabolização mais lenta (REIDENBERG, 1983; WOODHOUSE & JAMES, 1990) e taxa de eliminação mais prolongada nos animais idosos para um grande número de drogas (WILLIAMS & LOWENTHAL, 1992). Estes dados sugerem que o tremor mais intenso de ratos idosos à oxotremorina possa ser devido a uma metabolização mais lenta e/ou a uma eliminação mais prolongada. Neste sentido, KATO E TAKANAKA (1968), administrando o carisoprodol - um relaxante muscular de ação central - observaram uma taxa de metabolização e eliminação mais reduzida da droga em ratos idosos. Mesmo com a oxotremorina houve diferença na taxa de metabolização observada entre ratos

e camundongos e, como resultado da metabolização lenta da oxotremorina em camundongos, porém, rápida em ratos, ocorreu uma grande e prolongada hipotermia em camundongos e apenas uma leve queda na temperatura de ratos (HAMMER et al., 1968).

A soma destes dois fatores no organismo idoso (diminuição da metabolização e excreção) resultaria em maior concentração plasmática e cerebral da droga, levando a um maior aporte da mesma ao seu sítio de ação, aumentando a sua resposta (RICHEY & BENDER, 1977; SCHMUCKER, 1979; RAMOS et al., 1993).

Por outro lado, cabe considerar a possibilidade de alterações na sensibilidade de receptores muscarínicos centrais e periféricos com a idade, para explicar o fenômeno observado. Reforça esta hipótese o estudo realizado por PEDIGO, MINOR, KRUMREI (1984) em que citam que o efeito hipotérmico induzido por oxotremorina, administrada por via intracerebroventricular (ICV), foi maior e mais prolongado em camundongos idosos. Sabe-se, neste caso, que a administração ICV minimiza as diferenças na metabolização ou distribuição de drogas. (PEDIGO, 1988). Finalmente, poderia haver uma combinação de efeitos, ou seja, de um aumento na sensibilidade de receptores muscarínicos do organismo idoso com um aumento da concentração plasmática e cerebral da droga, conduzindo a um maior grau de susceptibilidade do grupo idoso à droga administrada.

Entretanto, vários relatos descrevem que, com a idade, há declínio do sistema colinérgico central quando se fazem medidas pré e/ou pós sinápticas da colina-acetiltransferase, da concentração de acetilcolina e do número de receptores (McGEER, 1984; RINNE, 1987; PILCH & MULLER, 1988; MULLER et al., 1991b; OSSOWSKA, 1993).

Sendo assim, se observamos apenas os aspectos pré e pós-sinápticos do sistema colinérgico acima descritos, há uma clara dissociação entre os dados neuroquímicos relatados na literatura e a resposta farmacológica de ratos idosos ao agonista colinérgico. Desse modo é difícil conciliar a diminuição dos componentes pré e pós sinápticos em ratos idosos, com a resposta aumentada desses mesmos animais à oxotremorina. Uma possível explicação seria uma mudança conformacional do receptor colinérgico decorrente do envelhecimento (LIPPA et al., 1985). Este autor postula a existência de 2 (dois) ou mais estados do receptor com diferentes afinidades para oxotremorina. Com base nisso há também a proposta de que, no rato idoso, o número de receptores muscarínicos de alta afinidade para oxotremorina esteja aumentado e, conseqüentemente, resulte em um maior efeito do agonista.

É sabido que o labirinto em T é um parâmetro útil para avaliar a aprendizagem e memória em roedores (OLIVEIRA, 1994; RITZMANN et al., 1993). Neste trabalho os animais

foram treinados na tarefa de ganha-troca realizada no labirinto em T.

No labirinto em T os ratos idosos apresentaram retardo na aprendizagem da tarefa de ganha-troca. Este resultado foi o mesmo obtido por outros autores (LOWY et al., 1985; MARKOWSKA et al., 1995), apesar de OHTA et al. (1991) não terem observado prejuízo na aquisição desta mesma tarefa.

Todavia, uma vez esta tarefa sendo aprendida, não se observou diferença no desempenho dos animais jovens e idosos quando foram introduzidos os retardos de tempo, resultado contrastante com aqueles obtidos por OHTA et al. (1991), em que se observou que ratos idosos tinham queda de desempenho maior do que os jovens. O fato de não obtermos diferenças entre os grupos jovem e idoso na fase de teste com retardo, talvez se deva ao fato de que no retardo de 1 minuto os animais jovens e idosos obtiveram desempenho semelhante ao obtido no início da aprendizagem da tarefa, ou seja, tinham chegado ao nível mínimo de erros. Provavelmente por esse motivo é que não foi possível observar a diferença entre os grupos.

As discrepâncias entre os dados de OHTA (1991) e os nossos poderiam ser devidas a algumas diferenças metodológicas, tais como a linhagem dos animais e altura das paredes laterais dos labirintos. O bom desempenho dos nossos ratos jovens na aquisição da tarefa pode ser, então, decorrente do fato dos ratos idosos e jovens



diferirem na capacidade de utilização de pistas espaciais. Isso está de acordo com outros autores (RIEKKINEN et al., 1992; MIETTINEN et al., 1993), os quais mostram que ratos idosos têm prejuízo no labirinto aquático de Morris (parâmetro utilizado para avaliação da memória espacial em roedores).

A oxotremorina, na dose utilizada, não melhorou o desempenho de nenhum dos grupos, embora ORDY et al. (1988) tenham mostrado que a fisostigmina (agonista colinérgico indireto) revertia o prejuízo de memória, induzido por escopolamina, em ratos idosos avaliados no teste do labirinto em T, mas tinha pouco efeito em ratos jovens (ORDY et al., 1988).

Existem algumas possíveis explicações para a ausência de efeito da oxotremorina em melhorar o desempenho dos animais no teste com retardos. A primeira é devida à maior afinidade para o receptor M2 do que para o M1, sendo este último mais relacionado com o processo de memória (CUTLER & SRAMEK, 1995). Todavia, sabe-se que o efeito de drogas sobre o aprendizado depende de muitas variáveis, tais como: espécie, tipo de tarefa, nível de treinamento e dose. Por exemplo: doses de nicotina, que facilitavam memória na esQUIVA ativa, eram menos efetivas quando em labirinto. Do mesmo modo, a oxotremorina melhorava o desempenho de ratos na esQUIVA passiva (HAROUTUNIAN et al., 1985) e labirinto radial (INAGAWA, 1993), todavia, não alterava o desempenho em

um aparelho de condicionamento operante (SHANNON et al., 1990).

Outra justificativa para explicar a ineficácia da oxotremorina poderia ser devido a utilização de uma dose muito baixa. Contudo, a escolha da dose de 0,1 mg/kg para a oxotremorina, na fase do teste com retardos de tempo em nosso trabalho, baseou-se na literatura, pois vários trabalhos mostravam que a oxotremorina na dose de 0,1 mg/kg, melhorava o desempenho de animais em tarefas que envolviam aprendizagem e memória (HAROUTUNIAN et al., 1985; HUYGENS et al., 1980; INAGAWA, 1993; CASTELLANO & MCGAUGH, 1991). Além disso, uma dose acima de 0,1 mg/kg alteraria a função motora, prejudicando o desempenho dos animais na tarefa do labirinto.

Ressalte-se que este estudo contribui para o esclarecimento dos mecanismos e conseqüências dos distúrbios colinérgicos relacionados à idade, os quais podem ser muito importantes para o entendimento dos problemas relacionados ao envelhecimento e possível desenvolvimento de tratamento bem sucedido para os mesmos (SHERMAN & FRIEDMAN, 1990).

## VII - CONCLUSÕES

Em ratos idosos tratados com oxotremorina, os efeitos do tremor em seus dois aspectos (intensidade e tempo), foram mais intensos e prolongados, os quais podem estar demonstrando alterações farmacocinéticas e/ou alterações na funcionalidade do sistema colinérgico central.

A resposta colinérgica periférica, traduzida pela cromodacriorréia, também se mostrou mais intensa em ratos idosos. Isto, provavelmente, indica que tanto o sistema colinérgico central quanto o periférico, são afetados com o passar da idade.

Os resultados do desempenho de ratos idosos no labirinto em T mostraram claramente que houve prejuízo de aprendizagem da tarefa, porém, uma vez esta sendo aprendida, não se observou diferença no desempenho dos animais quando foram introduzidos os retardos. A oxotremorina, na dose utilizada, não alterou a curva de decaimento de memória, tanto de ratos jovens quanto de idosos.

## VIII - RESUMO

O envelhecimento da população mundial vem causando grande impacto na vida sócio-econômica dos países. Por outro lado, vários estudos neuroquímicos e comportamentais em animais e humanos têm revelado mudanças relacionadas à idade. Sabendo-se que poucos estudos têm investigado a resposta farmacológica de agentes que atuam no sistema colinérgico em função da idade, este trabalho investigou as respostas central e periférica à oxotremorina (OXO) entre ratos jovens (3-6 meses) e idosos (24-30 meses). Os ratos idosos apresentaram respostas farmacológicas mais intensas, tanto a nível periférico (cromodacriorréia) como a nível central (tremor), após tratamento com OXO 0,25 a 1,0 mg/kg (ip.). Tais dados sugerem alterações farmacocinéticas e/ou alterações na funcionalidade e mostram ainda que, possivelmente, os sistemas colinérgico periférico e central são igualmente afetados com a idade. Ratos idosos mostraram um retardo na aprendizagem de uma tarefa no labirinto em T. Todavia, após aprendida a tarefa, não se observaram diferenças entre os grupos, apesar do tratamento dos animais com OXO 0,1 mg/kg.

## IX - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALTAVISTA, M.C.; BENTIVOGLIO, A.N.; CROCIANI, P.; ROSSI, P.;  
ALBANESE, A. Age-dependent loss of cholinergic neurones in  
basal ganglia of rats. **Brain Res.** **455**: 177-181, 1988.
- AMAGAYA, S.; UMEDA, S.H.M.; OGIHARA, Y. - Effects of  
shosaikoto, an oriental herbal medicinal mixture, on age-  
induced amnesia in rats. **J. Ethnopharmacol.**, **28**: 349-356,  
1990.
- ANDREWS, J.S.; JANSEN, J.H.M.; LINDERS, S.; PRINCEN, A. -  
Effects of disrupting the cholinergic system on short-term  
spatial memory in rats. **Psychopharmacology**, **115**: 485-494,  
1994.
- ARAUJO, D.M.; LAPCHAK, P.A.; MEANEY, M.J.; COLLIER, B.;  
QUIRION, R. - Effects of aging on nicotinic and muscarinic  
autoreceptor function in the rat brain: relationship to  
presynaptic cholinergic markers and binding sites. **J.**  
**NeuroSci.**, **10**(9): 3069-3078, 1990.
- BARTOLINI, L.; RISALTI, R.; PEPEU, G. - Effect of scopolamine  
and nootropic drugs on rewarded alternation in a T-maze.  
**Pharmacol. Bioch. & Behav.** **43**: 1161-1164, 1992.

BARTUS, R.T. - Drug to treat age-related neurodegenerative problems. The final frontier of medical science?. **J. Am. Geriatr. Soc.** **38**: 680-695, 1990.

BARTUS, R.T.; DEAN III, R.L.; BEER, B.; LIPPA, A.S. - The cholinerg hypothesis of geriatric memory dysfunction. **Science.** **217**: 408-417, 1982.

BATTISTIN, L.; RIGO, A.; BRACCO, F.; DAM, M.; PIZZOLATO, G. - Metabolic aspects of aging brain and related disorders. **Gerontology**, **33**: 253-258, 1987.

BIEGON, A.; DUVDEVANI, R.; GREENBERGER, V.; SEGAL, M. - Aging and brain cholinergic muscarinic receptors: an autoradiographic study in the rat. **J. Neurochemistry**, **51**: 1381-1385, 1988.

BIGL, V. & ARENDT, T. - Cholinergic neurons of the central nervous system: morphological aspects. **Acta Psychiatr. Scand.**, **Suppl. 366**: 7-13, 1991.

BIGL, V.; ARENDT, T.; FISCHER, S.; FISCHER, S.; WERNER, M.; ARENDT, A. - The cholinergic system in aging. **Gerontology**, **33**: 172-180, 1987.

- BISSO, G.M.; BRIANCESCO, R.; MICHALEK, H. - Size and charge isomers of acetylcholinesterase in the cerebral cortex of young and aged rats. **Neurochem. Res.**, **16**(5): 571-575, 1991.
- BRANDEIS, R.; DACHIR, S.; SAPIR, M.; LEVY, A.; FISHER, A. - Reversal of age-related cognitive impairments by an M1 cholinergic agonist, AF102B. **Pharmacol. Biochem. & Behav.** **36**: 89-95, 1990.
- CAMPBELL, S.S.; DAWSON, D.; ANDERSON, M.W. - Alleviation of sleep maintenance insomnia with timed exposure to bright light. **J. Am. Geriatr. Soc.**, **41**: 829-836, 1993.
- CAPRIOLI, A.; GHIRARDI, O.; RAMACCI, M.T. & ANGELUCCI, L. - Age-dependent deficits in radial maze performance in the rat: effect of chronic treatment with acetyl-l-carnitine. **Prog. Neuro-Psychopharmacology & Biol. Psychiat.**, **14**: 359-369, 1990.
- CARBONIN, P.; PAHOR, M.; BERNABEI, R.; SGADARI, A. - Is age an independent risk factor of adverse drug reactions in hospitalized medical patients? **J. Am. Geriatr. Soc.**, **39**: 1093-1099, 1991.

CASTELLANO, C & McGAUGH, J.L. Oxotremorine attenuates retrograde amnesia induced by post-training administration of the gasbaergic agonists muscimol and baclofen. **Behav. Neural Biol.** **56**(1): 25-31, 1991.

CASTORINA, L.F.M. - Acetyl-l-carnitine affects aged brain receptorial system in rodents. **Life Sci.**, **54**(17): 1205-1214, 1994.

CLARKE, P.B.S & KUMAR, R. - The effects of nicotine on locomotor activity in non-tolerant and tolerant rats. **Br. J. Pharmac.**, **78**: 329-337, 1983.

CLEMENT, J.G. - Chromodacryorrhea in rats: absence folloeing soman poisoning. **Toxicol. Applied Pharmacol.**, **124**: 52-58, 1994.

COOPER, J.R; FLOYD, E.B.; ROTH, R.H. **The Biochemical Basis of Neuropharmacology**. 6a. Ed. Oxford University Press, New York, 1991.

CÔTÉ, L.J. & KREMZNER, L.T. - Biochemical changes in normal aging in human brain. **Adv. Neurol.**, **38**: 19-30, 1983.



CREASEY, H. & RAPOPORT, S.I. - The aging human brain. **Ann. Neurol.**, **17**: 2-10, 1985.

CROOK, T. H. - Assessment of drug efficacy in age-associated memory impairment. **Adv. Neurol.**, **51**: 211-216, 1990.

CUTLER, N.R. & SRAMEK, J.J. - Muscarinic M1-receptor agonists. Potential in the treatment of Alzheimer's disease. **CNS Drugs** **3**(6): 467-481, 1995.

DE KEYSER, J.; EBINGER, G.; VAUQUELIN. G. - Age-related changes in the human nigrostriatal dopaminergic system. **Ann. Neurol.**, **27**: 157-161, 1990.

DECKER, M.W. - The effects of aging on hippocampal and cortical projections of the forebrain cholinergic system. **Brain Res. Rev.**, **12**: 423-438, 1987.

DOHANICH, G.P.; MCMULLAN, D.M.; CADA, D.A.; MANGUM, K.A. - Muscarinic receptor subtypes and sexual behavioral in female rats. **Pharmacol. Bioch. & Behav.**, **38**: 115-124, 1990.

DORCE, V.A.C.- **Estudos dos hormônios sexuais, femininos e da idade na atividade dopaminérgica central.** São Paulo, 1990.  
[Tese - Mestrado - Universidade de São Paulo].

DRACHMAN, D A.; LEAVITT, J. Human memory and cholinergic system. **Arch. Neurol.** **30**: 113-121, 1974

DRAGO, F.; DAGATA, V.; VALERIO, C.; SPADARO, F.; RAFFAELE, R.; NARDO, L.; GRASSI, M.; FRENI, V. - Memory deficits of aged male rats can be improved by pyrimidine nucleosides and n-acetil-glutamina. **Clin. Neuropharmacol.**, **13**(4): 290-296, 1990.

DUNNETT, S.B.; BADMAN, F.; ROGERS, D.C.; EVENDEN, J.L.; IVERSEN, S.D. - Cholinergic grafts in the neocortex or hippocampus of aged rats reduction of delay-dependent deficits in the delayed non-matching to position task. **Exp. Neurol.**, **102**: 57-64, 1988a.

DUNNETT, S.B.; EVENDEN, J.L.; IVERSEN, S.D. - Delay-dependent short-term memory deficits in aged rats. **Psichopharmacol.**, **96**: 174-180, 1988b.

FERGUSON, A.V.; TURNER, S.L.; COOPER, K.E.; VEALE, W.L. - Neurotransmitter effects on body temperature are modified

with increasing age. **Physiology & Behav.**, **34**: 977-981, 1985.

FIBIGER, H.C.; DAMSMA, G.; DAY, J.C. - Behavioral pharmacology and biochemical central cholinergic neurotransmission. In: NAPIER, T.C.B ed. - **The basal forebrain**, Plenum Press, New York, 1991.

FINCH, C.E.; RANDALL, P.K.; MARSHALL, J.F. - Aging and basal gangliar functions. **Ann. Rev. Geront. Geriat.**, **2**: 49-90, 1981.

FLOOD, J.F. & MORLEY, J.E. - Pharmacological enhancement of long-term memory retention in old mice. **J. Gerontology**, **45**(3): b101-104, 1990.

FLOOD, J.M.; SMITH, G.E.; CHERKIN, A. - Memory retention: potentiation of cholinergic drug combinations in mice. **Neurobiol. Aging**, **4**: 37-43, 1983.

FREUND, G. - Cholinergic receptor loss in brains of aging mice. **Life Sci.**, **26**: 371-375, 1980.

GAGE, F.H. & BJORKLUND, A. - Cholinergic septal grafts into the hippocampal formation improve spatial learning and

memory in aged rats by an atropine-sensitive mechanism. **J. Neurosci.**, **6**(10): 2837-2847, 1986.

GARIEPY, L.P.; VARIN, F.; DONATI, F.; SALIB, Y.; BEVAN, D.R.  
- Influence of aging on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of doxacurium. **Clin. Pharmacol. Ther.**, **53**: 340-347, 1993.

GELBMANN, C.M. & MULLER, W.E. - Chronic treatment with phosphatidylserine restores muscarinic cholinergic receptor deficits in the aged mouse brain. **Neurobiol. Aging**, **13**: 45-50, 1991.

GHIRARDI, O.; CAPRIOLI, A.; MILANO, S.; GIULIANI, A.; RAMACCI, M.T.; ANGELUCCI, L. - Active avoidance learning in old rats chronically treated with levocarnitine acetyl. **Physiol. Behav.**, **52**: 185-187, 1992.

GIANUTSOS, G. & LAL, H. - Modification of apomorphine induced aggression by changing central cholinergic activity in rats. **Neuropharmacology** **16**: 7-10, 1977.

GIMENEZ, R.; RAICH, J.; AGUILAR, J. Changes in brain striatum dopamine and acetylcholine receptors induced by chronic

CDP-choline treatment of aging mice. **Br. J. Pharmacol.**  
**104**: 575-578, 1991.

GOLDMAN, J. & CÔTÉ, L. - Aging of the brain: dementia of the  
Alzheimer's type. In: KANDELL, E.R.; SCHWARTZ, J.H;  
JESSEL, T.M., ed. - **Principles of Neural Science**. 3.ed.  
USA, Prentice-Hall Internacional Inc., 1991.

GOLOMB, J.; DE LEON, M.J.; KLUGER, A.; GEORGE, A.E.;  
TARSHISH, C.; FERRIS, S.H. - Hippocampal atrophy in normal  
aging (an association with recent memory impairment).  
**Arch. Neurol.**, **50**: 967-973, 1993.

GORDON, M. & PREIKSAITIS, H.G. - Drugs and aging brain.  
**Geriatrics**, **43**(5): 69-78, 1988.

HAMMER, W.; KARLEN, B.; RANE, A.; SJOQVIST, F. Rate of  
metabolism of tremorine and oxotremorine in rats and mice.  
**Life Sci.** **7**: 197-204, 1968.

HAPONIK, E.F. - Sleep disturbances of older persons:  
physicians' attitudes. **Sleep** **15**(2): 168-172, 1992.

- HAROUTUNIAN, V.; BARNES, E.; DAVIS, K.L. - Cholinergic modulation of memory in rats. **Psychopharmacology**, **87**: 266-271, 1985.
- HENDERSON, A.S. - Epidemiology of mental illness. In: HAFNER, H.; MOSCHEL, N.; SARTORIUS, N., ed. - **Mental health in the elderly: a review of the present state of research**. 1. ed. Berlin, Springer-Verlag, 1986. p.29-34.
- HERNADI, F. - Pharmacodynamic and pharmacokinetic relations of aging. **Int. J. Clin. Pharmacol. Ther. Toxicol.**, **30**(11): 545-546, 1992.
- HOCK, F. J. - Drug influences on learning and memory in aged animals and humans. **Neuropsychobiology**, **17**: 145-160, 1987.
- HUYGENS, P.; BARATTI, C.M.; GARDELLA, J.L.; FILINGER, E. Brain catecholamines modifications. The effects on memory facilitation induced by oxotremorine in mice. **Psychopharmacology**. **69**: 291-294, 1980.
- IKARASHI, Y.; FUJIMORI, K.; OHTAKE, K.; SHIOBARA, T.; MARUYAMA, Y. - Changes in the cholinergic neurochemical parameters in regional brain areas of wistar rats aged 3

(weanling), 10(mature) and 119(old age) weeks. **Lab. Anim. Sci.**, **44**(4): 393-396, 1994.

IKEGAMI, S. Behavioral impairment in radial-arm maze learning and acetylcholine content of the hippocampus and cerebral cortex in aged mice. *Behav. Brain Res.* **65**(1): 103-11, 1994.

INGRAM, D.K.; SPANGLER, E.L.; IILIMA, S.; IKARI, H.; KUO, H.; GREIG, N.H.; LONDON, E.D. - Rodent models of memory dysfunctions in Alzheimer's disease and normal aging: moving beyond the cholinergic hypothesis. **Life Sci.**, **55**(25/26): 2037-2049, 1994.

JONES, S.V.P. - Muscarinic receptor subtypes: modulation of ion channels. **Life Sci.**, **52**: 457-464, 1993.

KADAR, T.; SILBERMANN, M.; BRANDEIS, R.; LEVY, A. Age-related structural changes in the rat hippocampus: correlation with working memory deficiency. **Brain Res.**, **512**(1): 113-120, 1990.

KALACHE, A; VERAS, R.P.; RAMOS, L.R. - O envelhecimento da população mundial. Um desafio novo. **Rev. Saúde Pública**, **21**(3): 200-210, 1987.

- KATO, R. & TAKANAKA, A. - Metabolism of drug in old rats(II)  
metabolism *in vivo* and effect of drugs in old rats. **Jap.  
J. Pharmacol.**, **18**: 389-396, 1968.
- KITANI, K. - Liver and aging. **Gastroenterol. Jpn.**, **27**(2):  
276-285, 1992.
- KLEMM, W.R. - Cholinergic-Dopaminergic interactions in  
experimental catalepsy. **Psychopharmacology**, **81**: 24-27,  
1983.
- KUBANIS, P. & ZORNETZER, S.F. - Age-related behavioral and  
neurobiological changes: a review with an emphasis on  
memory. **Behav. Neural Biol.**, **31**: 115-172, 1981.
- KUBANIS, P.; GOBBEL, G.; ZORNETZER, S.F. - Age-related memory  
deficits in Swiss mice. **Behav. Neural Biol.**, **32**: 241-247,  
1981.
- LADINSKY, H.; SCHIAVI, G.B.; MONFERINI, E.; GIRALDO, E. -  
Pharmacological muscarinic receptor subtypes. Progress in  
**Brain Res.**, **84**: 193-200, 1990.



LAKS, J. - A psicofarmacologia do paciente idoso. **J. Bras. Psiq.**, **32**(5): 293-302, 1983.

LEFKOWITZ, 1990 - Neurohumoral transmission. In: GILMAN, A.G.; RALL, T.W.; NIES, A.S.; TAYLOR, P. **The pharmacological basis of therapeutics** 8.ed., Pergamon Press, New York, 1990, p90-101.

LEMMENS, H.J.M.; BURM, A.G.L.; HENNIS, P.J.; GLADINES, M.P.P.R.; BOVILL, J.G. - Influence of age on the pharmacokinetics of alfentanil. **Clin. Pharmacokinet.**, **19**(5): 416-422, 1990.

LEVEY, A.I. - Immunological localization of m1-m5 muscarinic acetylcholine receptors in peripheral tissues and brain. **Life Sci.**, **52**: 441-448, 1993.

LIPPA, A.S.; LOULLIS, C.C.; ROTROSEN, J.; CORDASCO, D.M.; CRITCHETT, D.J.; JOSEPH, J.A. - Conformational changes in muscarinic receptors may produce diminished cholinergic neurotransmission and memory deficits in aged rats. **Neurobiol. Aging**, **6**: 317-323, 1985.

LOWY, A.M.; INGRAM, D.K.; OLTON, D.S.; WALLER, S.B.; REYNOLDS M.A.; LONDON, E.D. - Discrimination learning requiring

different memory components in rats: age and neurochemical comparisons. **Behav. Neurosci.**, **99**(4): 638-651, 1985.

MAAYANY, S.; EGOZI, Y.; PINCHASI, I.; SOKOLOVSKY, M. On the interaction of drugs with the cholinergic nervous system-IV: tolerance to oxotremorine in mice: in vivo and in vitro studies. **Biochem. Pharmacol.** **26**: 1681-1687, 1977.

MACHADO, 1993. **Neuroanatomia funcional**. 2<sup>a</sup> edição. ed. Atheneu. São Paulo. 1993. 363p.

MAGGI, A.; SCHMIDT, M.J.; CHETTI, B.; ENNA, S.J. - Effect of aging on neurotransmitter receptor binding in rat and human brain. **Life Sci.**, **24**: 367-374, 1979.

MAGNANI, M.; POZZI, O.; BIAGETTI, R.; BANFI, S.; DORIGOTTI, L. - Oxiracetam antagonizes the disruptive effects of scopolamine on memory in the radial maze. **Psychopharmacology**, **106**: 175-178, 1992.

MARKS, M.J.; ARTMAN, L.D.; PATINKIN, D.M.; COLLINS, A.C. Cholinergic adaptations to chronic oxotremorine infusion. **J. Pharmacol. Exp. Ther.** **218**: 337-343, 1981.

MARKOWSKA, A.L.; OLTON, D.S.; GIVENS, B. - Cholinergic manipulations in the medial septal area: age-related

effects on working memory and hippocampal electrophysiology. **J. Neurosci.**, **15**(3): 2063-2073, 1995.

MARTIN J.R, FUCHS, A.; HARTING, J. - Drug induced hypothermia in adult and senescent rats. **Neurobiol. Aging**, **6**(2): 121-124, 1985.

MARTIN, J.R.; DRISCOLL, P.; GENTSCH, C. - Differential response to cholinergic stimulation in psychogenetically select rat lines. **Psychopharmacology**, **83**: 262-267, 1984.

MARTINEZ JR., J.L. & RIGTER, H. - Assessment of retention capacities in old rats. **Behav. Neural Biol.**, **39**: 181-191, 1983.

MATSUOKA, N.; MAEDA, N.; YAMAZAKI. M.; OHKUBO, Y.; YAMAGUCHI, I. - Effect of FR121196, a novel cognitive enhancer, on the memory impairment of rats in passive avoidance and radial arm maze tasks. **J. Pharmacol. Exp. Ther.**, **263**(2): 436-444, 1992.

McENTEE, W.J. & CROOK, T.H. - Age-associated memory impairment: a role for catecholamines. **Neurology**, **40**: 526-530, 1990.

McGEER, P. L. The 12th J.A.F Stevenson memorial lecture.  
Aging, Alzheimer's disease and the cholinergic system.  
**Can. J. Physiol. Pharmacol. 62:** 741-754, 1984.

MEYER, B.R. - Renal function in aging. **J. Am. Geriatr. Soc.**  
**37:** 791-860, 1989.

MIETTINEN, R.; SIRVIO, J.; RIKKINEN, P.; LAAKSO, M.P.;  
RIEKKINEN, M.; RIEKKINEN JR., P. - Neocortical,  
hippocampal and parvalbumin- and somatostatin-containing  
neurons in young and aged rats: correlation with passive  
avoidance and water maze performance. **Neuroscience, 53(2):**  
367-378, 1993.

MULLER, W.E. - Introduction. **Acta Psychiatr. Scand., Suppl.**  
**366:** 5-6, 1991a.

MULLER, W.E.; STOLL, L.; SCHUBERT, T.; GELBMANN, C.M. -  
Central cholinergic functioning and aging. **Acta Psychiatr.**  
**Scand. Suppl. 366:** 34-39, 1991b.

NABESHIMA, T. - Behavioral aspects of cholinergic  
transmission: role of basal forebrain cholinergic system  
in learning and memory. **Prog. Brain Res., 98:** 405-410,  
1993.

- NORDBERG, A. & BERGH, C. - Effect of nicotine on passive avoidance behavioral and motoric activity in mice. **Acta Pharmacol et Toxicol**, **56**: 337-341, 1985.
- NORDBERG, A. & WINBLAD, B. Cholinergic receptors in human hippocampus: distribution and variance with age. **Life Sci.** **29**: 1937-1944, 1981.
- OHNUKI, T. & NOMURA Y. - M1 acetylcholine receptor-mediated phosphatidylinositol turnover in adult and senescent rat brain slices. **Japan J. Pharmacol.**, **57**: 483-493, 1991.
- ORDY, J.M.; THOMAS, G.J.; VOLPE, B.T.; DUNLAP, W.P.; COLOMBO, P.M. - An animal model of human-type memory loss based on aging, lesion, forebrain ischemia, and drug studies with the rat. **Neurobiol. Aging**, **9**: 667-683, 1988.
- OSSOWSKA, K. - Disturbances in neurotransmission processes in aging and age-related diseases. **Pol. J. Pharmacol.**, **45**: 109-131, 1993.
- OHTA, H.; NI, X-H.; MATSUMOTO; WATANABE, H. - Working memory deficits in aged rats in delayed nonmatching to position

task and effect of physostigmine on performance of young and aged rats. **Japan J. Pharmacol.**, **56**: 303-309, 1991.

OLIVEIRA, M.G.M. - **Estratégias utilizadas por ratos com lesões cerebrais no desempenho de uma tarefa de discriminação**. São Paulo, 1994 [Tese de Doutorado - Escola Paulista de Medicina].

PALACIOS, J.M.; BODDEKE, H.W.G.M.; POMBO-VILLAR, E. - Cholinergic neuropharmacology: an update. **Acta Psychiatr. Scand.**, **366** (suppl.): 27-33, 1991.

PARSONS, S.M.; BAHR, B.A.; ROGERS, G.A.; CLARKSON, E.D.; NOREMBERG, K.; HICKS, B.W. - Acetylcholine transporter-vesamicol receptor pharmacology and structure. **Progress in Brain Research**, **98**: 175-181, 1993.

PEDIGO JR, N.W. - Pharmacological adaptations and muscarinic receptor plasticity in hypothalamus of senescent rats treated chronically with cholinergic drugs. **Psychopharmacology**, **95**: 497-501, 1988.

PEDIGO JR, W.W.; MINOR, L.D.; KRUMREI, T.N. - Cholinergic drug effects and brain muscarinic receptor binding in aged rats. **Neurobiol. Aging**, **5**: 227-233, 1984.

PEPEU, G. - Acetylcholine and brain aging. **Pharmacol. Res. Commun.**, **20**(2): 91-96, 1988.

PETKOV, V.D.; PETKOV, V.V; STANCHEVA, S. L. Age-related changes in brain neurotransmission. **Gerontology**, **34**: 14-21, 1988.

PILCH, H. & MULLER, W.E. - Chronic treatment with piracetam elevates muscarinic cholinergic receptor density in the frontal cortex of aged mice. **Pharmacopsychiatry**, **21**: 324-325, 1988.

PINTOR, A.; FORTUNA, S.; VOLPE, M.T.; MICHALEK, H. - Muscarinic receptor plasticity in the brain of senescent rats: down regulation after repeated administration of diisopropyl fluorofosphate. **Life Sci.**, **42**: 2113-2121, 1988.

POPOVA, J.S. & PETKOV, V.D. - Age-related changes in rat brain muscarinic receptors and  $\beta$ -adrenoreceptors. **Gen. Pharmac.**, **20**: 581-584, 1989.

PORSOLT, R.D. - The silent epidemic: the search for the treatment of age-related memory impairment. **Trends Pharmacol. Sci.**, **10**: 3-6, 1989.

POTIER, B.; RASCOL, O.; JAZAT, F.; LAMOUR, Y. DUTAR, P. - Alterations in the properties of hippocampal pyramidal neurons in the aged rat. **Neuroscience**, **48**(4): 793-806, 1992.

PRADHAN, S.N. - Central neurotransmitters and aging. **Life Sci.**, **26**: 1643-1656, 1980.

QUIRION, R.; AUBERT, I.; ROBITAILLE, Y.; GAUTHIER, S.; ARAUJO, D.M.; CHABOT, J-G. Neurochemical deficits in pathological brain aging: specificity and possible relevance for treatment strategies. **Clin. Neuropharmacol.**, **13**(3): s75-s80, 1990.

RAMOS, L.R.; NETO, J.T.; ALMADA-FILHO, C.M.; SUSTOVICH, D.R.; - Terapêutica medicamentosa no idoso. In: PRADO, F.C.; RAMOS, J.; VALLE, J.R.; RAMOS, O.L.; R, H.A. ed. - **Atualização Terapêutica**. 16<sup>a</sup>ed. São Paulo, Artes Médicas, 1993. p1188-1191.

RAMOS, L.R.; VERAS, R.P.; KALACHE, A. - Envelhecimento populacional: uma realidade brasileira. **Rev. Saúde Publ.**, **São Paulo**, **21**(3): 211-224, 1987.



RAPP, P.R.; ROSEMBERG, R.A.; GALLAGHER, M. - An evaluation of spatial information processing in aged rats. **Behav. Neurosci.**, **101**(1): 3-12, 1987.

RAPP, P. R. & AMARAL, D. G. Individual differences in the cognitive and neurobiological consequences of normal aging. **TINS**, **15**(9): 340-345, 1992.

REIDENBERG, M.M. - Drugs in the elderly. **Med. Clin. North Amer.**, **66**(5): 1073-1078, 1983.

RESUL, B.; LEWANDER, T.; RINGDAHL, B.; ZETTERSTROM, T.; DAHLBOM, R. - The pharmacological assessment of a new, potent oxotremorine analogue in mice and rats. **Eur. J. Pharmacol.**, **80**: 209-215, 1982.

RETZ, K.C.; FORSTER, M.J.; FRANTZ, N.; LAL, H. - Differences in behavioral responses to oxotremorine and physostigmine in new zealand black (NZB/B1NJ) and C57BL/6 mice. **Neuropharmacol.**, **26**(5): 445-452, 1987.

RICHEY, D.P. & BENDER, D. - Pharmacokinetic consequences of aging. **Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.**, **17**: 49-65, 1977.

RIEKKINEN JR, P.; SIRVIO, J.; RIEKKINEN, M.; LAMMINTAUSTA, R.; RIEKKINEN P. - Atimepazole, an  $\alpha_2$  antagonist, stabilizes age-related high-voltage spindle and passive avoidance defects. **Pharmacol. Bioch. & Behav.**, **41**: 611-614, 1992.

RINGDAHL, B. & JENDEN, D.J. - Pharmacological properties of oxotremorine and its analogs. **Life Sci.**, **32**: 2401-2413, 1983.

RINNE, J.O. Muscarinic and dopaminergic receptors in the aging human brain. **Brain Res.** **404**: 162-168, 1987.

RITZMANN, R. F.; KLING, A.; MELCHIOR, C. L.; GLASKY, A.J. Effect of age and strain on working memory in mice as measured by win-shift paradigm. **Pharmacol. Biochem. Behav.** **44**: 805-807, 1993.

RUSSEL, R.W. - Behavioral correlates of presynaptic events in the cholinergic neurotransmitter system. **Prog. Brain Res.**, **32**: 43-130, 1988.

RYLETT, R.J. & SCHIMIDT, B.M. - Regulation of the synthesis of acetylcholine. **Prog. Brain Res.**, **98**: 161-165, 1993.

SAMORAJSKI, T. - Central neurotransmitter substances and aging: a review. **J. Am. Geriatr. Soc.**, **25**(8): 337-348, 1977.

SANTOS, R.; CARLINI, E.A. - Central responses to cholinergic drugs of REM sleep deprived rats. **Pharmacol. Bioch. & Behav.**, **29**: 217-221, 1988a.

SANTOS, R. & CARLINI, E.A. - Red lacrimal secretion (chromodacryorrhea) induced by cholinergic drugs in rats subjected to the watertank technique. **Pharmacology**, **36**: 61-68, 1988b.

SHANNON, H.E; BEMIS, K.G.; HENDRIX, J.C.; WARD, J.S. - Interactions between scopolamine and muscarinic cholinergic agonists or cholinesterase inhibitors on spatial alternation performance in rats. **J. Pharmacol. Exp. Ther.**, **255**(3): 1071-1077, 1990.

SCHINDLER, U. - Pré-clinical evaluation of cognition enhancing drugs. **Prog. Neuro-Psychopharmacol. & Biol. Psychiat.**, **13**: s99-s115, 1989.

SCHULZE G. & SIEBEL A. - Memory impairments and cholinergic receptors in aging rats. **Naunyn Schimiedebergs Arch. Pharmacol.**, **339**: R-105, 1989.

SCHMUCKER, D.L. - Age-related changes in drug disposition. **Pharmacological Rev.**, **30**(4): 445-456, 1979.

SCHWARZ, R.D.; BERNABEI, A.A.; SPENCER, C.J.; PUGSLEY, T.A. - Loss of muscarinic M1 receptors with aging in the cerebral cortex of Fischer 344 rats. **Pharmacol. Bioch. & Behav.**, **35**: 589-593, 1990.

SHERMAN, K.A. & FRIEDMAN, E. - Pre- and post-synaptic cholinergic dysfunctions in aged rodent brain regions: new findings and an interpretative review. **Int. J. Devl. Neurosci.**, **8**(6): 689-708, 1990.

SLATER, P.; DICKINSON, S. L. Effects of lesioning basal ganglia nuclei and output pathways on tremorine-induced tremor in rats. **J. Neurol. Sci.** **57**(2-3): 235-247, 1982.

SLOAN, R.W. - Principles of drug therapy in geriatric patients. **Am. Fam. Physician**, **45**(6): 2709-2718, 1992.

SOFFIÉ, M.; BRONCHART, M. Age-related scopolamine effects on social and individual behaviour in rats. **Psychopharmacology**, **95**: 344-350, 1988.

SONCRANT, T.T.; HOLLOWAY, H.W.; GREIG, N.H.; RAPOPORT, S.I. - Regional brain metabolic responsivity to the muscarinic cholinergic agonist arecoline is similar in young and aged Fischer-344 rats. **Brain Res.**, **487**: 255-266, 1989.

SPANGLER, E. L.; CHACHICH, M. E.; CURTIS, N. J.; INGRAM, D. K. Age-related impairment in complex maze learning in rats: relationship to neophobia and cholinergic antagonism. **Neurobiol. Aging**, **10**: 133-141, 1989.

STIJNEN, A.M.; POSTEL-WESTRA, I.; LANGEMEIJER, M.W.E.; HOOGERKAMP, A.; VOSKUYL, R.A.; VAN VEZOOIJEN, C.F.A. - Pharmacodynamics of the anticonvulsant effect of oxazepam in aging BN/BiRij rats. **Br. J. Pharmacol.**, **107**: 165-170, 1992.

STRATTON, L.O. & PETRINOVICH, L. - Post-trial injections of an anti-cholinesterase drug and maze learning in two strains of rats. **Psychopharmacologia**, **5**: 47-54, 1963.

- STRONG, R.; HICKS, P.; HSU, L.; BARTUS, R.T.; ENNA, S.J. - Age-related alterations in the rodent brain cholinergic system and behavioral. **Neurobiol. Aging**, **1**: 59-63, 1980.
- SURICHAMORN, W.; KIM, O.N.; LEE, N.H.; LAI, W.S.; EL-FAKAHANY, E.E. - Effects of aging on the interaction of quinuclidinyl benzilate, n-methylscopolamine, pirenzepine, and gallamine with brain muscarinic receptors. **Neurochem. Res.**, **13**(12): 1183-1191, 1988.
- TAMARU, M.; YONEDA, Y.; OGITA, K.; SHIMIZU, J.; NAGATA, Y. Age-related decreases of the N-methyl -D-aspartate receptor complex in the rat cerebral cortex and hippocampus. **Brain Res.**, **542**(1): 83-90, 1991.
- TAYLOR, L. & GRIFFITH, W.H. - Age-related decline in cholinergic synaptic transmission in hippocampus. **Neurobiol. Aging**, **14**, 509-515, 1993.
- TAYLOR, P. - Cholinergic agonists. In: GILMAN, A.G.; RALL, T.W.; NIES, A.S.; TAYLOR, P. **The pharmacological basis of therapeutics** 8.ed., Pergamon Press, New York, 1990, p122-149.

- TOLEDO-MORREL, L.; MORREL, F.; FLEMING, S. - Age-dependent deficits in spatial memory are related to impaired hippocampal kindling. **Behav. Neurosci.**, **98**(5): 902-907, 1984a.
- TOLEDO-MORREL, L.; MORREL, F.; FLEMING, S.; COHEN, M.M. - Pentoxifyline reverses age-related deficits in spatial memory. **Behav. Neural Biol.**, **42**: 1-8, 1984b.
- TUCEK, S. - Regulation of acetylcholine synthesis in the brain. **J. Neurochemistry**, **44**(1): 11-24, 1985.
- TUCEK, S. - The synthesis of acetylcholine: twenty years of progress. **Prog. Brain Res.**, **84**: 467-475, 1990.
- TUMER, N.; SCARPACE, P.J.; LOWENTHAL, D.T. - Geriatric pharmacology: basic and clinical considerations. **Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.**, **32**: 271-302, 1992.
- VEERING, B.; BURM, A.G.L.; VLETTER, A.A.; VAN DEN HEUVEL, R.P.M.; ONKENHOUT, W.; SPIERDIJK, J. - The effect of age on systemic absorption, disposition and pharmacodynamics of bupivacaine after epidural administration. **Clin. Pharmacokinet.**, **22**(1): 75-84, 1992.

VERAS, R.P. & MURPHY, E. - The ageing of the third world: tackling the problems of community surveys. Part I: Brazil-a young country grows old. **Int. J. Geriatr. Psychiatr.**, **6**: 619-627, 1991.

WALLACE, J. E.; KRAUTER, E. E.; CAMPBELL, B. A. Animal models of declining memory in the aged: short-term and spatial memory in the aged rat. **J. Gerontol.** **35**(3): 355-363, 1980.

WALLIN , A. & GOTTFRIES, C.G. - Keynot lecture 2: biochemical substrates in normal aging and Alzheimer's disease. **Pharmacopsychiatry**, **23**: 37-43, 1990.

WANG, G. J.; VOLKOW, N. D.; LOGAN, J.; FOWLER, J. S. et al. Evaluation of age-related changes in serotonin 5-HT<sub>2</sub> and dopamine D<sub>2</sub> receptor availability in health human subjects. **Life Sci.** **56**(14): PL249-53, 1995.

WEINSTOCK, M.; ZAVADIL, A.P.; ROSIN, A.J.; CHIUEH, C.C.; KOPIN, I.J. - The role of ptheripheral catecholamines in oxotremorine tremor in the rat and its antagonism by beta adrenoreceptor blocking agents. **J. Pharmacol. Exp. Ther.** **206**: 91-96, 1978.



WILLIAMS, L.& LOWENTHAL, D.T. - Drug therapy in the elderly.

**Southern Med. J.**, **85**(2): 127-131, 1992.

WOODHOUSE, K.W.; JAMES, O.F.W. - Hepatic drug metabolism and

ageing. **Br. Med. Bull.**, **46**(1); 22-35, 1990.

YUFU, F.; EGASHIRA, T.; YAMANAKA, Y. - Age-related changes of

cholinergic markers in the rat brain. **Jpn. J. Pharmacol.**,

**66**: 247-255, 1994.